

Б.С. Сушко

Особливості поведінкових проявів соматичного і вісцерального болю під впливом короткочасового іммобілізаційного стресу

Проведено експерименти на мишах для з'ясування впливу короткотривалого (30 хв) іммобілізаційного стресу на розвиток соматичного (формаліновий тест) і вісцерального (оцтова проба) болю в поведінкових дослідах. Показано, що при соматичному болю короткочасова іммобілізація подовжує тривалість початкової гострої і віддаленої фаз больової реакції, разом з тим підвищує рухову активність тварин і зменшує час сну. При вісцеральному болю такий стрес викликає появу періоду тимчасової гіперальгезії разом з активацією рухомості тварин.

Ключові слова: іммобілізаційний стрес, соматичний біль, вісцеральний біль.

ВСТУП

Вважається, що при розвитку больового синдрому стрес, як правило, викликає гіпоальгезію [9–11, 14, 26]. Водночас існують експериментальні факти, які суперечать такому висновку [2, 8, 12, 15, 18, 25]. Біль, як неприємне чуттєве або емоційне відчуття, менше пов'язаний з пошкодженням тканин, але суттєво залежить від стану організму. В кожній конкретній ситуації розвиток больового синдрому на дію ноцицептивного стимулу відбувається паралельно з відповідними моторними, вегетативними і емоційними компонентами [20]. Так, за умов іммобілізації змінюється чутливість тварин до ноцицептивного стимулу разом з транзитним розподілом нейротрансмітерних систем у мозку [24]. Больова поведінка і інтенсивність болю залежать від його виду (соматичний або вісцеральний), різновиду стимулу, тривалості іммобілізації, генетичної лінії тварин [6, 7, 13, 19, 22, 23, 27].

Метою нашої роботи було порівняти часовий хід розвитку соматичного і вісце-

рального білю у мишей після короткочасової іммобілізації.

МЕТОДИКА

Експерименти проведені на дорослих білих аутбредних мишах-самцях ($n = 12$) масою 25–30 г. Перед дослідами тварин витримували 24 год в індивідуальних клітках для звикання. Іммобілізаційний стрес тривалістю 30 хв створювали у дослідних тварин до нанесення ноцицептивного стимулу. В цей час тварини знаходилися в пластмасовій циліндричній іммобілізаційній камері (довжина 12, діаметр 3 см) з вільними умовами для дихання. Соматичний біль викликали ін'єкцією 20 мкл 5%-го розчину формаліну підшкірно в стопу задньої кінцівки (формаліновий тест), вісцеральний біль – внутрішньоочередною ін'єкцією 0,1 мл 2%-го оцту (оцтова проба). Ноцицептивний стимул наносили як дослідним, так і контрольним тваринам. На відміну від дослідних контрольних тварин не піддавали іммобілізаційному стресу. Реєстрацію поведінкових проявів починали приблизно

© Б.С. Сушко

через 1 хв після ін'єкції після повернення тварин до своїх індивідуальних кліток. При спостереженнях фіксували тривалість больових і не больових проявів поведінки за спеціальною комп'ютерною програмою «Lady Pain» протягом години [3, 6, 7, 21]. Больовою реакцією при соматичному болю вважали тривалість вилузування твариною кінцівки з формаліном, при вісцеральному болю – тривалість і кількість специфічних корчів тварин (лордоз). Вимірювали також такі прояви, як переміщення, грумінг, їда, сон. Досліди проводили у весняний період протягом тижня. Кожну тварину викорис-

товували в досліді один раз, дотримуючись гуманних правил поводження [4]. Середню сумарну тривалість (або кількість) поведінкових проявів дослідної групи тварин за певний проміжок часу порівнювали з контрольною групою. Розбіжності вважали значущими за критерієм *t* Стьюдента при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведені дослідження показали, що в контролі при соматичному болю больова реакція мала дві фази, що були чітко окреслені у часі (рис. 1,а, 1). Перша фаза гострого

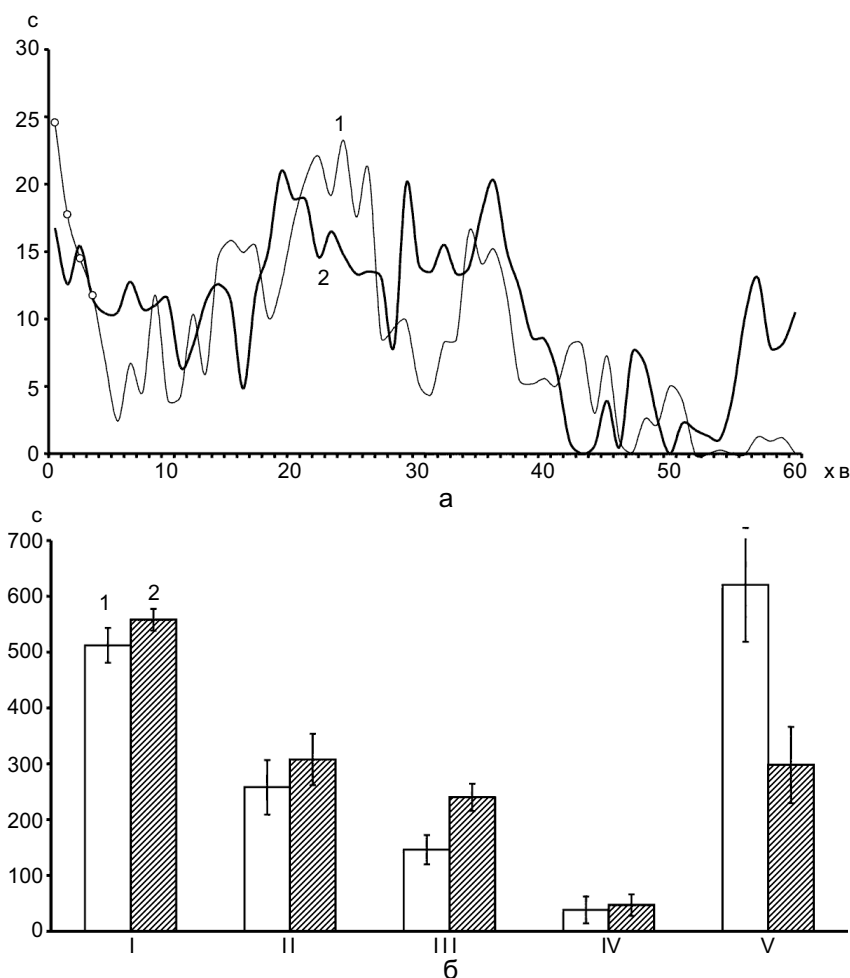


Рис. 1. Тривалість соматичного болю у мишей після 30хвилинної іммобілізації: а – зміна тривалості больової реакції у часі в контролі (1) і після іммобілізації (2). За віссю ординат – середня тривалість больової реакції за 1 хв, за віссю абсцис – час спостережень; б – середня тривалість поведінкових проявів тварин у контролі (1) і після іммобілізації (2). За віссю ординат – середня тривалість прояву поведінки за 60 хв I–V – поведінкові прояви: I – больова реакція, II – переміщення, III – грумінг, IV – їжа, V – сон

болю, реєструвалася на початку спостережень як максимум тривалості больової реакції, яка з часом швидко спадала майже до нульових значень впродовж 10 хв. Після гострого болю починалася друга, більш подовжена фаза тонічного болю. Її максимум припадав приблизно на 25-ту хвилину і поступово спадав впродовж 50 хв, наближаючись до нульових значень.

Після короткочасового іммобілізаційного стресу розвиток соматичного болю дещо змінювався (див. рис. 1,а, 2). По-перше, гостра фаза була менше виражена, вона починалася з нижчих значень тривалості болю і її спад був слабкішим. Якщо в контролі швидкість спаду тривалості гострої фази становила $3,7 \text{ с/хв} \pm 0,7 \text{ с/хв}$, то у тварин після іммобілізації лише $1,0 \text{ с/хв} \pm 0,8 \text{ с/хв}$ ($n=12$, $P<0,05$). По-друге, у тварин з іммобілізаційним стресом тривалість соматичного болю знов починала зростати і після закінчення тонічної фази. Так, у контролі тривалість больової реакції в останні 10 хв спостережень була $7 \text{ с} \pm 4 \text{ с}$, а для тварин дослідної групи – $61 \text{ с} \pm 25 \text{ с}$ ($P<0,05$, $n=12$). Проте після іммобілізації середня тривалість больової реакції за весь час спостережень достовірно не відрізнялася від контролю. На рис. 1,б зображено середню тривалість різних проявів поведінки за 60 хв спостережень у контролі (1) та після іммобілізації (2). У тварин після іммобілізаційного стресу різко погіршувався сон (див. рис. 1,б, V) і час його знижувався на 52 % (298 ± 68 щодо $621 \text{ с} \pm 102 \text{ с}$ у контролі, $P<0,02$, $n=12$). Тривалість епізоду сну скорочувалася з 55 ± 4 до $36 \text{ с} \pm 8 \text{ с}$. Середній час усіх зареєстрованих рухових проявів також був вищим за контрольні значення (сумарно для всіх проявів за 60 хв спостережень на 21 %). Особливо істотно проявлявся такий прояв, як грумінг (рис. 1,б, III). Слід відмітити також, що тривалість грумінгу за весь час спостережень підвищувалася на 64 % ($P<0,02$, $n=12$). Максимум припадав якраз на період

фази гострого болю. В інтервалі з 7-ї по 8-му хвилини тривалість грумінгу у 4 рази перевищував контрольні значення. Середній відсоток тривалості болю відносно всіх рухових проявів поведінки був дещо нижчий у дослідних тварин, але не достовірно відносно вибраного рівня значущості ($48,4 \pm 3,0$ щодо $53,6 \% \pm 3,2 \%$ у контролі, $P<0,1$). Таким чином, короткотривала іммобілізація, з одного боку, зменшує гостру фазу тонічного болю і подовжує соматичний больовий синдром, з іншого – підвищує рухову активність тварин і зменшує тривалість сну.

У контролі при вісцеральному болю часовий хід тривалості больової реакції набував іншого характеру, ніж у разі соматичного болю (рис. 2,а). Найбільші значення больова реакція набувала на початку спостережень, надалі її тривалість спадала поступово, залишаючись у кінці спостережень приблизно на рівні 50 % від початкових значень. Вісцеральний біль на цілий порядок зменшував тривалість переміщень тварин порівняно з соматичним болем.

Короткочасовий іммобілізаційний стрес при вісцеральному болю викликав посилення больової реакції в першій половині спостережень. Таке зростання тривалості вісцерального болю (рис. 2а, 2) спостерігалось в інтервалі з 5-ї до 20-ї хвилини (до 391 ± 18 щодо $283 \text{ с} \pm 25 \text{ с}$ у контролі, $P<0,01$). Водночас сумарна тривалість больової реакції за весь час спостережень (60 хв) статистично не відрізнялася від контрольних значень.

Після іммобілізації підвищувалася рухова активність тварин – переміщення, грумінг (див. рис. 2,б, II, III). Тривалість переміщень після іммобілізаційного стресу підвищувалася (81 ± 14 відносно $22 \text{ с} \pm 10 \text{ с}$ у контролі; $P<0,01$, $n=10$). Іммобілізаційний стрес при вісцеральному болю викликав зростання тривалості грумінгу у тварин на 58 % за 60 хв спостережень. Так, після

імобілізації середня тривалість грумінгу підвищувалася до 278 ± 34 щодо $176 \text{ с} \pm 35$ с у контрольній групі тварин. На відміну від тривалості переміщень час грумінгу при вісцеральному болю був одного порядку з його значеннями при соматичному болю. Підвищення рухової активності тварин після імобілізації призводило лише до відносного зниження тривалості больової реакції (відносно всіх рухових феноменів). Якщо в контрольній групі відносна частка больової реакції в середньому становила $84,4 \% \pm 2,2 \%$, то у тварин після імобілізації – $74,6 \% \pm 2,9 \%$ ($P < 0,02$, $n = 12$). Подібно до соматич-

ного болю, вісцеральний біль також порушував сон імобілізованих тварин: не всі тварини засинали до кінця спостережень, у них спостерігалася велика різниця в тривалості сну. В контрольній групі 5 з 10 тварин зовсім не спали, а в дослідній групі кількість тварин, що спали, зменшилася до трьох. За такої ситуації середнє зниження тривалості сну у дослідних тварин було статистично не значуще (див. рис. 2,б, IV; $n = 10$). Якщо для порівняння враховувати лише тварин, що спали ($n = 7$; 5), то різниця збільшується майже вдвічі: дослідні тварини спали в середньому $128 \text{ с} \pm 36 \text{ с}$, а

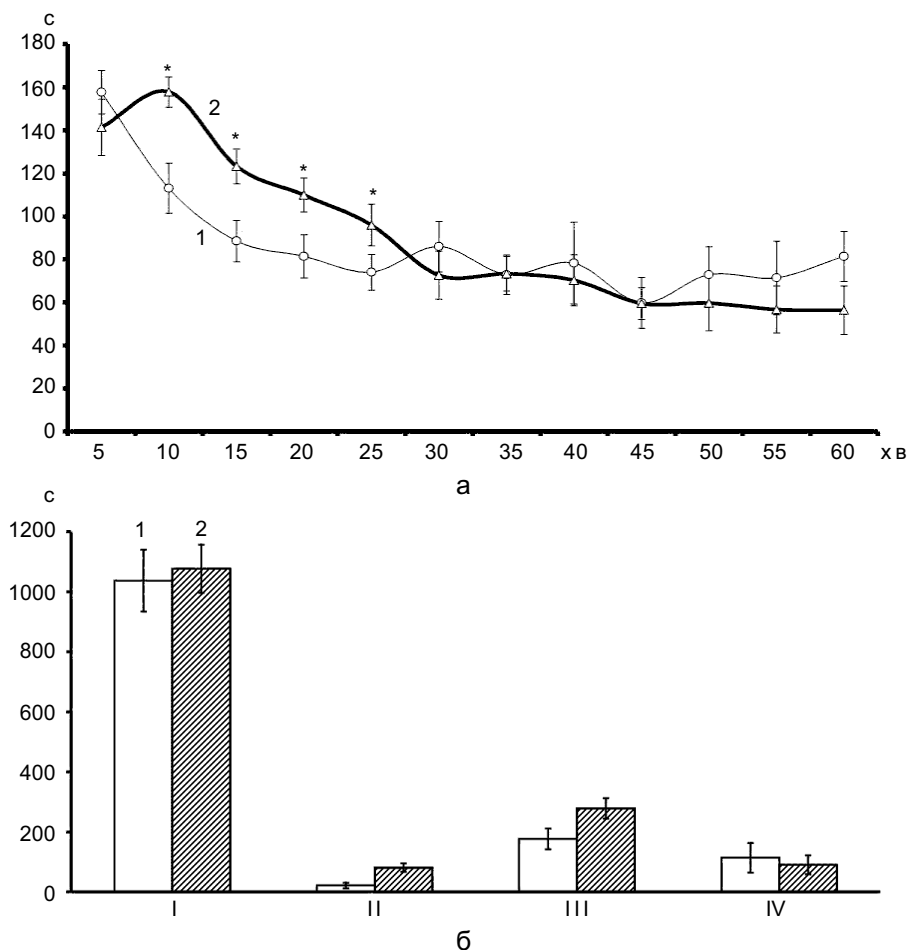


Рис. 2. Тривалість вісцерального болю у мишей після 30-хвилинної імобілізації: а – зміна тривалості больової реакції у часі в контролі (1) і після імобілізації (2). За віссю ординат – середня тривалість больової реакції за 5 хв, за віссю абсцис – час спостережень; б – середня тривалість поведінкових проявів тварин в контролі (1) і після імобілізації (2). За віссю ординат – середня тривалість прояву поведінки за 60 хв I–IV – поведінкові прояви: I – больова реакція, II – переміщення, III – грумінг, IV – сон

контрольні $227 \text{ с} \pm 68 \text{ с}$, проте розбіжності і в цьому разі статистично не достовірні. Наведений аналіз дає можливість припустити, що після короткочасової іммобілізації у тварин з вісцеральним болем спостерігалася тенденція до зменшення тривалості сну.

ОБГОВОРЕННЯ

Наведені результати вказують, що іммобілізаційний стрес навіть за своєї короткотривалої дії змінює і соматичний, і вісцеральний біль. Загальним проявом такої дії є підвищення рухової активності тварин. Таке збільшення тривалості переміщень і грумінгу за наших умов виявляє стадію резистентності тварин до чинного стресора за класифікацією Сельє [1, 5]. Проте спостерігаються і відмінності між змінами соматичної і вісцеральної больової реакції на іммобілізаційний стрес. Однією з принципальних відмінностей регуляції соматичного і вісцерального болю є їх анатомо-функціональна організація [3, 16, 17]. Соматичному болю притаманна чітка соматотопія, пропорційність відчуття інтенсивності ноцицептивному стимулу, формування адекватних проявів поведінки і захисно-приспосувальних реакцій. Вісцеральний біль не локалізований, часто відсутня залежність інтенсивності відчуття від обсягу пошкодження, формування адаптивної поведінки обмежено прийняттям вимушеної пози, а генералізація захисної реакції призводить до різкого зниження рухової активності. В наших дослідках паралельне дослідження часових змін тривалості больової реакції дослідних і контрольних тварин дає змогу порівняти поведінкові зміни у будь-який проміжок спостережень.

При соматичному болю у іммобілізованих тварин зазнавала редукції початкова гостра фаза болю, але через 50 хв спостережень тривалість больової реакції ставала

вищою за контрольні значення. Вісцеральний стимул при іммобілізаційному стресі впродовж 15 хв від початку спостережень викликав достовірне ($P < 0,01$) збільшення тривалості больової реакції поведінки на 38 %. Не виключено, що збільшення таких поведінкових проявів, які можуть характеризувати больову реакцію, пов'язано саме з підвищенням загальної рухової активності тварин після іммобілізації. Разом з тим існують літературні підтвердження, що іммобілізаційний стрес може призводити до певних періодів підвищення тривалості больової реакції, тобто викликати гіперальгезію. Так, гіперальгезивний вплив емоційного стресу був зареєстрований нами у мишей двох різних генетичних ліній у протилежних фазах добового ритму [2]. Зазначимо також існування різних шляхів впливу емоційного і фізичного стресу на регуляцію ноцицепції [20]. Вивчення дії періодичного гіпокінетичного стресу впродовж 9 діб на соматичний і вісцеральний біль також показало, що за таких умов гіпоальгезія не завжди спостерігалася [13]. З одного боку, стрес це реакція організму на зовнішні та внутрішні впливи, яка направлена на ліквідацію наслідків дії «пошкоджуючих» факторів з іншого – призводить до порушень і зниження можливостей функціональних систем (дістрес). З цього визначення випливає, що стрес має як позитивні, так і негативні прояви. На вирішення негативних наслідків стресу направлена робота антистресорних систем, які визначають індивідуальну стійкість до стресу. Отримані результати, а також дані літератури вказують на те, що впливи іммобілізаційного стресу на біль не завжди однозначно призводять до експериментально зареєстрованої гіпоальгезії. Проте порушення сну тварин і зміна біохімічних показників на дію іммобілізаційного стресу швидше за все можуть вказувати на ускладнення розвитку больового синдрому.

Б.С. Сушко

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ СОМАТИЧЕСКОЙ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ БОЛИ ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

На белых аутобредных мышах изучали влияние непродолжительного (30 мин) иммобилизационного стресса на развитие соматической (формалиновый тест) и висцеральной (уксусная проба) боли в опытах с регистрацией поведения. Показано, что при соматической боли непродолжительная иммобилизация продлевает длительности начальной острой и отдаленной фаз болевой реакции, вместе с этим повышает двигательную активность животных и уменьшает длительность сна. При висцеральной боли такой стресс вызывает появление периода временной гипералгезии вместе с активацией подвижности животных.

Ключевые слова: иммобилизационный стресс, соматическая боль, висцеральная боль.

B. S. Sushko

THE BEHAVIORAL FEATURES IN MICE INDUCED BY SOMATIC AND VISCERAL PAIN UNDER INFLUENCE OF SHORT IMMOBILIZATION STRESS

In experiments on mice with behavior registration, we investigated the influence of short (30 min) immobilization stress on the development of somatic (the formalin test) and visceral (the acetic test) pain. It is shown that during somatic pain short immobilization prolongs the duration of the initial sharp and the remote phases of painful reaction. This is accompanied by an increase in motion activity and reduction of sleep duration. When visceral pain was evoked, such stress causes occurrence of the period of temporal hyperalgesia together with activation of mobility of animals.

Key words: short immobilization stress, somatic pain, visceral pain.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березовский В. Я., Костюк П. Г., Мойбенко О. О. Ганс Селье – лікар, патофізіолог, гуманіст (1907-1982) // Фізіол. журн. – 2007. – **53**, № 3. – С. 94–102.
2. Будак А.В., Сушко Б.С. Гиперальгезивное влияние эмоционального стресса у мышей линий C57BL/6J и CBA/CaLac на фоне заданного суточного ритма // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 2006. – **38**, № 5/6. – С. 466–471.
3. Лиманский Ю. П., Тамарова З. А., Бидков Е. Г., Колбун Н. Д. Угнетение ноцицептивных реакций

- мышей под влиянием низкоинтенсивного микроволнового облучения точек акупунктуры // Нейрофизиология / Neurophysiol. – 1999. – **31**, №. 4. – С. 318–322.
4. Про захист тварин від негуманного поводження // Закон України № 3447–IV від 21 лютого 2006 р. – Відомості Верховної Ради України. – 2006. – **27**. – 990 с.
 5. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. – М.: Медгиз, 1960. – 254 с.
 6. Сушко Б. С. Особливості больової реакції та чутливості тварин різних генетичних груп // Фізіол. журн. – 2004. – **50**, № 2. – С. 75–79.
 7. Сушко Б. С. Розвиток вісцерального болю під впливом ноцицептивного стимулу і генетичного фактора // Фізіол. журн. – 2006. – **52**, № 3. – С. 78–83.
 8. Bessiere B., Richebey P., Laboureyras E. et al. Nitrous oxide (N₂O) prevents latent pain sensitization and long-term anxiety-like behavior in pain and opioid-experienced rats // Neuropharmacol. – 2007. – **53**, № 6. – P. 733–740.
 9. Bhattacharya S. K., Das N., Sarkar M. K. Inhibition of carrageenin-induced pedal oedema in rats by immobilization stress // Res. Exp. Med. – 1987. – **187**, № 4. – P. 303–313.
 10. Bocheva A.I., Djambazova E.B. Immobilization, cold and hot stresses temperature and nociceptive changes in rats: comparative study // Acta Physiologica. – 2007. – **191**, Suppl. 658. – P. F19–158.
 11. Chakrabart K., Chakrabart A.S., Mahaja A.S., Mishr T.K. Immobilisation stress induced analgesia in diabetic rats // Indian J. Physiol. Pharmacol. – 1997. – **41**, № 3. – P. 275–279.
 12. Chu L.F., Angst M.S., Clark D. Opioid-induced hyperalgesia in humans: molecular mechanisms and clinical considerations // Clin J. Pain. – 2008. – **24**, № 6. – P. 479–496.
 13. Chuyan E. N., Zayachnikova T. V. Hypokinetic stress-Induced modifications of the pain sensitivity in rats // Neurofiziologiya/Neurophysiology. – 2007. – **39**, № 2. – P. 174–183.
 14. Croissandeau G., Wahnob F., Yashpalb K., Nabil G. Increased stress-induced analgesia in mice lacking the proneuropeptide convertase PC2 // Neuroscience Letters. – 2006. – **406**, Issues 1–2. – P. 71–75.
 15. DuPen A., Shen D., Ersek M. Mechanisms of opioid-induced tolerance and hyperalgesia // Pain Manag. Nurs. – 2007. – **8**, № 3. – P. 113–121.
 16. Gebhart G. F., Joshi S. K. Visceral pain // Current Rev. Pain. – 2000. – **4**, № 6. – P. 499–506.
 17. Hwang B.H., Chang H.M., Gu Z.H., Suzuki R. C-fos gene expression is increased in the paraventricular hypothalamic nucleus of Sprague-Dawley rats with visceral pain induced by acetic acid without detectable changes of corticotrophin-releasing factor mRNA: a quantitative approach with an image analysis system // Anat. Rec. (Hoboken). – 2007. – **290**, № 4. – P. 406–413.
 18. Imbe H., H. Iwai-Liao H., Senba E. Stress-induced

- hyperalgesia: animal models and putative mechanisms // *Front Biosci.* – 2006. – **11**, № 1. – P. 2179–2192.
19. Kiiatkin E.A. The pain sensitivity and behavioral reactivity of rats in somatic and visceral pain states // *Izv. Akad. Nauk SSSR Biol.* – 1990. – Jul-Aug, **4**. – P. 632–635.
20. Kwon M.S., Seo Y.J., Shim E.J., Lee J.K. et al. The differential effects of emotional or physical stress on pain behaviors or on c-Fos immunoreactivity in paraventricular nucleus or arcuate nucleus // *Brain Res.* – 2008. – **1190**, № 23. – P. 122–131.
21. Limansky Y. P., Tamarova Z. A., Gulyar S. A. Suppression of pain by exposure of acupuncture points to polarized light // *Pain Res. Menage.* – 2006. – **11**, № 1. – P. 49–57.
22. Marin M.T., Cruz F.C., Planeta C.S. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats // *Physiol. Behav.* – 2007. – **90**, № 1. – P. 29–35.
23. Mineta K., Nomura M., Terado M. et al. Upregulation of corticotropin-releasing hormone gene expression in the paraventricular nucleus of cyclophosphamide-induced cystitis in male rats // *Brain Res.* – 2004. – **1018**, № 2. – P. 193–200.
24. Porro C.A., Carli G. Immobilization and restraint effects on pain reactions in animals // *Pain.* – 1988. – **32**, № 3. – P. 289–307.
25. Rivat C., Laboueyras E., Laulin J.P. et al. Non-nociceptive environmental stress induces hyperalgesia, not analgesia, in pain and opioid-experienced rats // *Neuropsychopharmacol.* – 2007. – **32**, № 10. – P. 2217–2228.
26. Robinson D. A., Wei F., Wang G. D. et al. Oxytocin mediates stress-induced analgesia in adult mice // *J. Physiol.* – 2002. – **540**, № 2. – P. 593–606.
27. Seo Y.J., Kwon M.S., Shim E.J. et al. Changes in pain behavior induced by formalin, substance P, glutamate and pro-inflammatory cytokines in immobilization-induced stress mouse model // *Brain Res. Bull.* – 2006. – **71**, № 1–3. – P. 279–286.

Ин-т фізіології ім. О. Богомольця НАН України, Київ

Матеріал надійшов до редакції 02.02.2009