

# Динамика болевой чувствительности у самцов и самок крыс в условиях длительной социальной изоляции

С.Д. Ширенова, Н.А. Крупина, Н.Н. Хлебникова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

## Резюме

**Введение.** Стress в раннем периоде развития человека может приводить к увеличению риска ряда соматических заболеваний и развития хронической боли. К числу стрессорных воздействий относится социальная изоляция, которая может продолжаться длительное время. Удобной моделью для изучения влияния социальной изоляции на болевую чувствительность является ранняя социальная изоляция грызунов (post-weaning isolation), однако большинство исследований проводится только на самцах.

**Цель.** Изучение динамики болевой чувствительности у самцов и самок крыс Вистар, подвергнутых длительной социальной изоляции.

**Методы.** В возрасте 1 месяца самцы и самки крыс Вистар (n=63) были отлучены от матери. Крысы экспериментальной группы были рассажены по-одиноке (16 самок и 15 самцов). Контрольных животных (14 самок и 18 самцов) содержали в группах по 4–5 крыс одного пола. Пороги болевой реакции (ПБР) измеряли в тесте «Hot Plate» до начала изоляции (в возрасте 1 мес), через 2, 4 и 7,5 мес изоляции (в возрасте 3, 5 и 8,5 мес соответственно).

**Результаты.** Исходно ПБР у животных разных групп не различались. На всех сроках социальной изоляции ПБР у изолированных крыс были выше: через 2 мес изоляции по облизыванию задней лапки ( $F_{(1,40)}=4,883$ ,  $p=0,033$ ), через 4 и 7,5 мес изоляции – по выпрыгиванию ( $F_{(1,59)}=6,883$ ,  $p=0,011$  и  $F_{(1,59)}=9,239$ ,  $p=0,004$  соответственно). В возрасте 5 мес ПБР выпрыгивания у самок был выше, чем у самцов ( $F_{(1,59)}=8,624$ ,  $p=0,005$ ). Выявлено снижение ПБР с возрастом, более плавное у самок крыс.

**Заключение.** Динамика болевой чувствительности у самок и самцов крыс Вистар в условиях длительной социальной изоляции различается. Необходимо учитывать эти различия для повышения трансляционной валидности данной модели при изучении патофизиологических механизмов болевой чувствительности и поиске новых препаратов-анальгетиков.

**Ключевые слова:** длительная социальная изоляция, крысы Вистар, болевая чувствительность, самцы, самки, «Hot Plate».

**Для цитирования:** Ширенова С.Д., Крупина Н.А., Хлебникова Н.Н. Динамика болевой чувствительности у самцов и самок крыс в условиях длительной социальной изоляции. Российский журнал боли, 2019; 17 (4): 27–34. <https://doi.org/10.25731/RASP.2019.04.38>

## Информация об авторах:

Ширенова С.Д. – <https://orcid.org/0000-0003-2942-1194>

Крупина Н.А. – <https://orcid.org/0000-0002-2462-899X>

Хлебникова Н.Н. – <https://orcid.org/0000-0002-0245-305X>

**Автор, ответственный за переписку:** Ширенова С.Д. – e-mail: shirenova.jr@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2942-1194>

# Dynamics of pain sensitivity in male and female rats under prolonged social isolation

S.D. Shirenova, N.A. Krupina, N.N. Khlebnikova

*Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia*

## Abstract

**Background.** Early-life stress may increase the risk of somatic diseases and chronic pain in humans. Social isolation, which can be long-lasting, is among stressful experience. A convenient model for studying the effect of social isolation on pain sensitivity is post-weaning isolation in rodents, although most studies only used males.

**Objective.** To study the dynamics of pain sensitivity in male and female Wistar rats under prolonged social isolation.

**Methods.** One-month-old Wistar rats (n=63) were weaned from the dams. Rats of the experimental group were housed individually (16 females, 15 males). Control animals (14 females, 18 males) were kept in groups of 4–5 rats of the same sex. Pain thresholds were measured in the “Hot Plate” test before isolation (1-month-old rats), after 2, 4, and 7.5 months of isolation (3-, 5-, and 8.5-month-old rats, respectively).

**Results.** The baseline pain thresholds in the animals from different groups did not differ. On all terms of social isolation, pain thresholds in isolated rats were higher: after 2 months of isolation, as judged by the latency of hind-paw licking ( $F_{(1,40)}=4,883$ ,  $p=0,033$ ), after 4 and 7.5 months as judged by the latency of

jumping ( $F_{(1,59)}=6.883$ ,  $p=0.011$  and  $F_{(1,59)}=9.239$ ,  $p=0.004$ , respectively). In five-month-old females, pain thresholds of jumping were higher than in males ( $F_{(1,59)}=8.624$ ,  $p=0.005$ ). Pain thresholds decreased with age; the descend was smoother in females.

**Conclusion.** The dynamics of pain sensitivity under prolonged social isolation differ for female and male Wistar rats. These differences should be considered to increase the translational validity of the model when studying the pathophysiological mechanisms of pain sensitivity and searching for new analgesic drugs.

**Keywords:** long-term social isolation, Wistar rats, pain sensitivity, males, females, «Hot Plate».

**For citation:** Shirenova S.D., Krupina N.A., Khlebnikova N.N. Dynamics of pain sensitivity in male and female rats under prolonged social isolation. Russian journal of pain 2019; 17 (4): 27–34. (In Russ.) <https://doi.org/10.25731/RASP.2019.04.38>

#### Information about the authors:

Shirenova S.D. – <https://orcid.org/0000-0003-2942-1194>

Krupina N.A. – <https://orcid.org/0000-0002-2462-899X>

Khlebnikova N.N. – <https://orcid.org/0000-0002-0245-305X>

**Correspondence author:** Shirenova S.D. – e-mail: shirenova.jr@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2942-1194>

## Введение

Стресс в раннем периоде развития человека оказывает неблагоприятное действие и в дальнейшем может приводить к появлению аффективных нарушений, расстройств психоэмоциональной и когнитивной сфер, увеличению риска ряда соматических заболеваний и развития хронической боли [1–6]. К числу таких стрессирующих воздействий относится социальная изоляция (депривация) в детском возрасте, сопровождающаяся ограничением сенсорного входа и дефицитом обучения в лингвистической, когнитивной и социальной сферах в критические периоды развития, что во взрослом возрасте ведет к формированию атипичного аффективного фенотипа с нарушением стресс-реактивности [7, 8].

Социальная изоляция является важным фактором в оценке боли и ее преодолении, усиливая восприятие боли у человека [9]. Показано, например, что для людей, живущих в одиночестве, боль в спине является в большей степени инвалидизирующим фактором [10], а период выздоровления увеличивается [11]. Напротив, социальная поддержка больных одиноких людей оказывает положительное влияние на эффективность лечения хронической боли в спине [10] и опосредованно снижает переживание боли у людей с диагнозом ВИЧ [12].

В популяционных клинических исследованиях выявлена большая распространенность боли среди женщин по сравнению с мужчинами; отмечено, что женщины более чувствительны к действию болевых раздражителей разной модальности и демонстрируют отличную от мужской стратегию преодоления, включающую социальную поддержку [см. обзор 13]. Последствия стрессирующего воздействия в раннем возрасте различны у женщин и мужчин: у взрослых, переживших жестокое обращение в детстве, более выраженное снижение болевой чувствительности отмечено у женщин [14]. Мы предполагаем, что стрессогенная социальная изоляция в раннем онтогенезе также может приводить к разным изменениям болевого ощущения и восприятия боли у взрослых представителей женского и мужского пола. Накоплены данные по механизмам половых различий восприятия боли и болевой чувствительности как таковой [15], однако причины и механизмы возникновения различий в болевой чувствительности у взрослых особей различного пола вследствие стрессирующего воздействия в раннем онтогенезе практически не изучены.

Удобной экспериментальной моделью для изучения этой проблемы может быть ранняя социальная изоляция грызунов обоего пола, начинающаяся сразу после отлучения детенышей от матери (post-weaning isolation) и длящаяся, как правило, 4–9 недель. Изменения эмоционально-мотивационной сферы на данной модели проявляются в виде гиперактивности, усиления социального взаимодействия и агрессивности, развития когнитивных нарушений, повышения тревожности и/или в появлении депрессивно-подобных нарушений, хотя данные противоречивы [16–18]. Существующие половые различия в развитии грызунов в подростковом возрасте при их выращивании в условиях социальной изоляции проявляются в различном поведенческом ответе на ранний стресс у самцов и самок: самки, как правило, более гиперактивны, у них менее выражен условный страх [19, 20]. Принято считать, что нарушения в поведении обусловлены нейропластическими изменениями [8]. В настоящее время большинство исследований проводится на самцах, хотя очевидна необходимость сравнительного изучения последствий ранней социальной изоляции у особей обоего пола не только по поведенческим показателям, но и по болевой чувствительности.

Как показано в немногочисленных исследованиях, основным следствием одиночного содержания самцов грызунов было повышение порогов болевой реакции (ПБР) в ответ на термическое воздействие и электрические стимулы (21–4). Однако есть и противоречивые этому выводу данные: в исследовании Adler et al. [25] длительная социальная изоляция (7–9 недель) у крыс не повлияла на ПБР.

В наших недавних исследованиях на модели ранней социальной изоляции у самцов крыс Вистар выявлены гиперактивность, повышенная тревожность и агрессивность, а также нарушения неассоциативного обучения; установлено, что основные нарушения эмоционально-мотивационной деятельности животных сохраняются при увеличении длительности социальной изоляции от двух до трех мес [26, 27], однако болевую чувствительность у этих животных не оценивали.

**Цель** настоящего исследования заключалась в изучении динамики болевой чувствительности в teste «Hot Plate» у самцов и самок крыс Вистар, подвергнутых длительной социальной изоляции.

**Материалы и методы**

Работа проведена на 63 белых крысах популяции Вистар, рожденных и выращенных в питомнике ФГБНУ «НИИОПП». Все процедуры и эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016, и ГОСТ 33215-2014, 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными» под контролем Этического комитета ФГБНУ «НИИОПП». Животных содержали в стандартных условиях вивария с естественной сменой освещённости и свободным доступом к еде и питью (сухой сбалансированный корм производства ООО «Лаборкорм», Россия).

День рождения крыс считали нулевым постнатальным днём (ПНД0). Для минимизации влияния генетического фактора и выравнивания условий развития самкам в ПНД1 оставляли для вскармливания по 5 крысят самцов или самок из разных помётов. На 26 день постнатального развития крыс отлучали от матери. В возрасте 1 мес крысы были распределены на 4 группы: самки «Контроль» (n=14), самки «Изоляция» (n=16), самцы «Контроль» (n=18), самцы «Изоляция» (n=15). Контрольных крыс по возможности не разлучали и в дальнейшем содержали по 4–5 особей в клетке размером 37,0×57,0×19,0 см. Крыс, распределенных в группы изолированного содержания, рассаживали поодиночке и содержали в клетках размером 36,5×20,5×14,0 см.

ПБР оценивали в teste «Hot Plate» при  $t=55^\circ$  ( $\pm 0,3^\circ$ ) («TSE systems», Германия). Регистрировали латентный период для каждой из избавляющих реакций: облизывание передней лапки, облизывание задней лапки и выпрыгивание. Максимальная длительность тестирования составляла 30 сек. Тест проводили 4 раза: в возрасте 1 мес (до начала социальной изоляции), в возрасте 3 мес (спустя 2 мес социальной изоляции), в возрасте 5 мес (спустя 4 мес социальной изоляции) и в возрасте 8,5 мес (спустя 7,5 мес социальной изоляции).

Статистическую обработку результатов проводили по алгоритмам программы Statistica 8.0. По результатам предварительной проверки по тесту Колмогорова-Смирнова приняли гипотезу о нормальном характере распределения данных и применили для сравнительного анализа дисперсионный анализ Two-Way ANOVA по факторам «Пол» и «Содержание» для каждого срока измерения. Для оценки изменения ПБР с возрастом использовали дисперсион-

ный анализ Two-Way ANOVA по фактору «Группа» (самки «Контроль» / самки «Изоляция» / самцы «Контроль» / самцы «Изоляция») и фактору повторных измерений «Возраст» (1 мес / 3 мес / 5 мес / 8,5 мес). Для последующего сравнения средних дисперсионного комплекса использовали тест Ньюмана-Кеулса. Принятый уровень значимости составлял 5%. Если достигнутый уровень значимости превышал критическое значение, принимали нулевую гипотезу. Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

**Результаты исследования**

У крыс в возрасте 1 мес масса тела самок была статистически значимо меньше массы тела самцов (One Way ANOVA по фактору «Группа»  $F(3,59)=4,431$ ,  $p=0,007$ ) (табл. 1). Масса тела крыс в группах «Контроль» и «Изоляция» ни у самцов, ни у самок не различалась. Two-Way ANOVA по факторам «Пол» и «Содержание» выявил различия по массе тела между самцами и самками на всех последующих сроках обследования: (влияние фактора «Пол» в возрасте 3 мес  $F(1,59)=57,211$ ,  $p<0,001$ , в возрасте 5 мес  $F(1,59)=360,720$ ,  $p<0,001$ , в возрасте 8,5 месяцев  $F(1,59)=404,576$ ,  $p<0,001$ ). Влияния фактора «Содержание» на массу тела не наблюдалось ни на одном из сроков обследования (во всех случаях  $p>0,1$ ).

В teste «Hot Plate» частота встречаемости болевых реакций у крыс изменялась с возрастом. Число крыс, демонстрировавших каждую из болевых реакций на разных сроках обследования, представлено в табл. 2. В возрасте 1 мес частота встречаемости выпрыгивания у крыс оказалась наименьшей: эту реакцию совершили менее 50% животных. В связи с этим в возрасте 1 мес статистический анализ проводили только по показателям латентного периода облизывания передней и задней лапок. В возрасте 3 мес более 50% крыс демонстрировали все три реакции избавления. На данном сроке все три реакции избавления были использованы для статистического анализа. В возрасте 5 и 8,5 мес в основном крысы демонстрировали только выпрыгивание. Статистический анализ ПБР в возрасте 5 и 8,5 мес проводили только по показателю латентного периода выпрыгивания.

Исходная величина ПБР по облизыванию как передней, так и задней лапок, измеренная в возрасте 1 мес, не различалась ни для каких пар групп (One Way ANOVA по фактору «Группа» для ПБР по облизыванию передней

**Таблица 1. Изменения массы тела крыс с возрастом**

Table 1. Changes in rat body mass with age

| Группа/Вес (г) | Самки<br>«Контроль» | Самки<br>«Изоляция» | Самцы<br>«Контроль» | Самцы<br>«Изоляция» |
|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 1 месяц        | 45 $\pm$ 2,0*       | 46 $\pm$ 1,8*       | 52 $\pm$ 1,7        | 52 $\pm$ 1,9        |
| 3 месяца       | 228 $\pm$ 8,2+      | 232 $\pm$ 7,7+      | 294 $\pm$ 7,2       | 282 $\pm$ 7,9       |
| 5 месяцев      | 255 $\pm$ 8,0+      | 265 $\pm$ 8,5+      | 406 $\pm$ 8,2       | 420 $\pm$ 7,5       |
| 8,5 месяцев    | 289 $\pm$ 9,0+      | 297 $\pm$ 9,7+      | 471 $\pm$ 9,3       | 483 $\pm$ 8,5       |

Примечание: \* $p<0,05$ ; + $p<0,001$  по сравнению с самцами той же группы (постдисперсионный анализ по тесту Ньюмана-Кеулса).

Note: \* $p<0,05$ ; + $p<0,001$  compared with the males of the same group (ANOVA followed by the Newman-Keuls post hoc test).

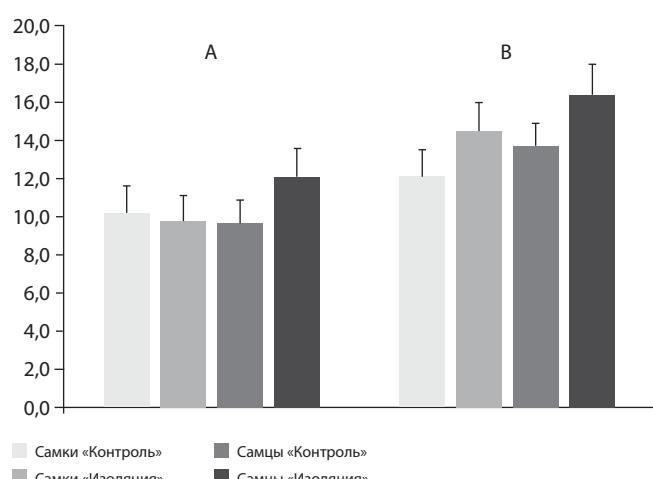
Таблица 2. Частота встречаемости болевых реакций на разных сроках обследования

Table 2. The frequency of pain reactions at different periods of the examination

| Возраст                           | Группа                     |                            |                            |                            |
|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                   | Самки «Контроль»<br>(n=14) | Самки «Изоляция»<br>(n=16) | Самцы «Контроль»<br>(n=18) | Самцы «Изоляция»<br>(n=15) |
| <b>Облизывание передней лапки</b> |                            |                            |                            |                            |
| 1 мес                             | 12                         | 14                         | 17                         | 11                         |
| 3 мес                             | 8                          | 12                         | 12                         | 8                          |
| 5 мес                             | 2                          | 4                          | 0                          | 2                          |
| 8,5 мес                           | 0                          | 1                          | 0                          | 1                          |
| <b>Облизывание задней лапки</b>   |                            |                            |                            |                            |
| 1 мес                             | 10                         | 10                         | 15                         | 9                          |
| 3 мес                             | 9                          | 9                          | 15                         | 11                         |
| 5 мес                             | 2                          | 4                          | 0                          | 6                          |
| 8,5 мес                           | 0                          | 0                          | 0                          | 0                          |
| <b>Выпрыгивание</b>               |                            |                            |                            |                            |
| 1 мес                             | 4                          | 5                          | 8                          | 5                          |
| 3 мес                             | 14                         | 15                         | 18                         | 12                         |
| 5 мес                             | 14                         | 16                         | 18                         | 15                         |
| 8,5 мес                           | 14                         | 16                         | 18                         | 15                         |

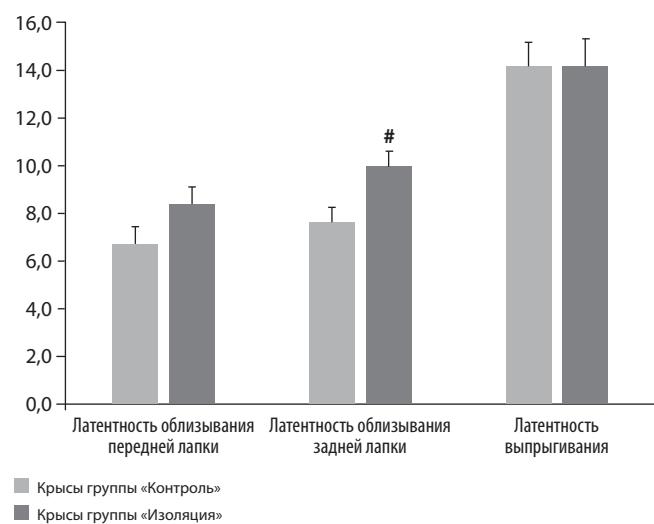
лапки  $F_{(3,50)}=0,666$ ,  $p=0,578$ ; для ПБР по облизыванию задней лапки  $F_{(3,40)}=1,384$ ,  $p=0,262$ ) (рис. 1).

У крыс в возрасте 3 мес после двух месяцев социальной изоляции двухфакторный анализ по факторам «Пол» и «Содержание» выявил влияние фактора «Содержание» только по показателю латентного периода облизывания задней лапки ( $F_{(1,40)}=4,883$ ,  $p=0,033$ ): у крыс, подвергну-



**Рис. 1. Исходные значения ПБР у крыс в возрасте 1 месяца.**  
По вертикали – величина ПБР, сек. А – латентность облизывания передней лапки; В – латентность облизывания задней лапки

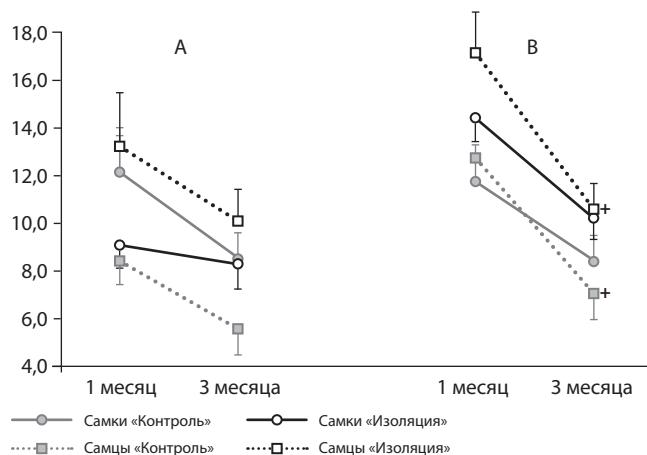
**Fig. 1. Baseline pain threshold values in 1-month-old rats.**  
Vertical – pain threshold' values, sec. A – latency of the front paw licking; B – latency of the hind paw licking



**Рис. 2. Влияние фактора «Содержание» на ПБР у крыс в возрасте 3 мес (длительность социальной изоляции – 2 мес).**  
По вертикали – величина ПБР, сек;  $\#p=0,018$  по сравнению с ПБР облизывания задней лапки у крыс, содержавшихся в группах (постдисперсионный анализ по тесту Ньюмана-Кеулса)

**Fig. 2. Housing factor effect on the pain thresholds in the three-month-old rats (social isolation lasted for two months).**

Vertical – pain threshold' values, sec;  $\#p=0,018$  compared with the pain thresholds for hind paw licking in the group-housed rats (ANOVA followed by the Newman-Keuls post hoc test)



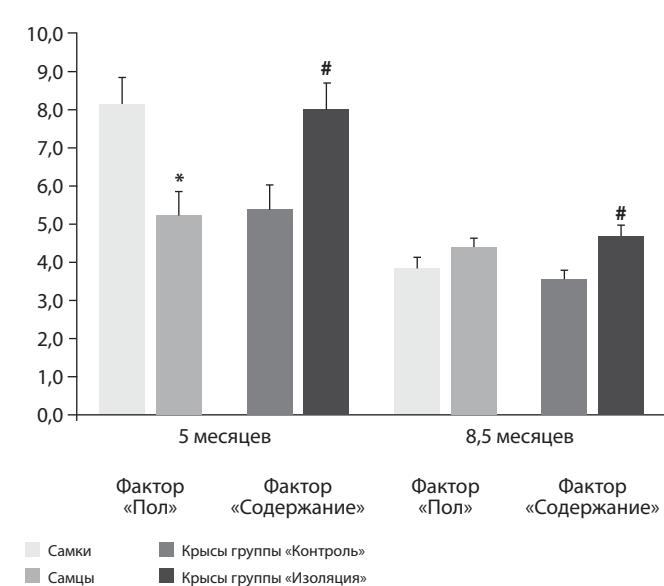
**Рис. 3. Изменение ПБР у крыс в возрасте 1 и 3 месяцев (соответственно до изоляции и после двух месяцев изоляции).** По вертикали – величина ПБР, сек. А – латентный период облизывания передней лапки; В – латентный период облизывания задней лапки.

Представлены результаты только по тем крысам, которые продемонстрировали одну и ту же реакцию на обоих сроках обследования. Облизывание передней лапки: самки «Контроль», n=7; самки «Изоляция», n=12; Самцы «Контроль», n=12; Самцы «Изоляция», n=5. Облизывание задней лапки: самки «Контроль», n=8; самки «Изоляция», n=7; Самцы «Контроль», n=13; Самцы «Изоляция», n=7. +p<0,05 по сравнению со значением показателя в той же группе крыс в возрасте 1 мес (постдисперсионный анализ по тесту Ньюмана-Кеулса).

**Fig. 3. Changes in the pain thresholds in the one- and three-month-old rats (respectively, before isolation and after two months of isolation).** Vertical – pain threshold' values, sec. A – latency of the fore paw licking; B – latency of the hind paw licking. The results are presented only for those rats that showed the same reaction at both periods of the examination. Licking the front paw: females "Control", n=7; females "Isolation", n=12; Males "Control", n=12; Males "Isolation", n=5. Licking the hind paw: females "Control", n=8; females "Isolation", n=7; Males "Control", n=13; Males "Isolation", n=7. +p<0,05 compared with the value in the same group of rats at the age of one month (ANOVA followed by the Newman-Keuls post hoc test).

тых длительной социальной изоляции, ПБР был больше (рис. 2). Влияния фактора «Пол» на ПБР по передней и задней лапкам и по выпрыгиванию на этом сроке наблюдения не выявлено. Взаимодействие факторов не обнаружено.

Сравнение ПБР в возрасте 1 и 3 мес методом двухфакторного анализа по факторам «Группа» и «Возраст» выявил статистически значимое влияние фактора «Возраст» на латентный период облизывания передней лапки (Two Way ANOVA,  $F_{(1,32)}=9,009$ ,  $p=0,005$ ): с возрастом ПБР снижался (Newman-Keuls test,  $p=0,006$ ) (рис. 3, А). Также обнаружено влияние фактора «Группа» ( $F_{(3,32)}=3,024$ ,  $p=0,044$ ), однако постдисперсионный анализ по тесту Newman-Keuls не выявил межгрупповых различий на каждом из этих сроков. Взаимодействие факторов не обнаружено. Схожие результаты были получены при анализе изменений латентного периода облизывания задней лапки: выявлено статистически значимое влияние фактора «Возраст» ( $F_{(1,31)}=28,811$ ,  $p<0,001$ ) и фактора «Группа» ( $F_{(3,31)}=3,682$ ,  $p=0,022$ ). Латентность облизывания задней лапки также снижалась с возрастом (Newman-Keuls test,  $p<0,001$ ), однако снижение в группах самок не достигло уровня статистической значимости



**Рис. 4. Влияние факторов «Пол» и «Содержание» на латентный период выпрыгивания у крыс в возрасте 5 и 8,5 мес (соответственно длительность социальной изоляции – 4 и 7,5 мес).**

По вертикали – величина ПБР, сек; #p<0,01 по сравнению с ПБР выпрыгивания у крыс того же возраста, содержавшихся в группах; \*p=0,011 по сравнению с ПБР выпрыгивания у самок того же возраста (постдисперсионный анализ по тесту Ньюмана-Кеулса)

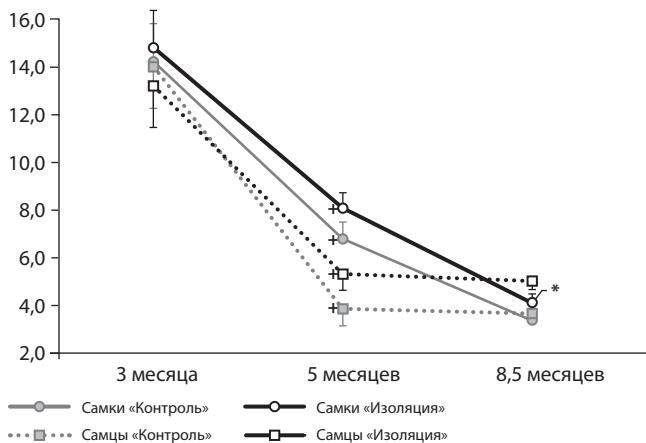
**Fig. 4. The effects of Sex and Housing factors on the latency of jumping in rats aged 5 and 8.5 months (respectively, social isolation lasted for 4 and 7.5 months).**

Vertical – pain threshold' values, sec; #p < 0,01 compared with pain thresholds of jumping in the group-housed rats of the same age, \*p=0,011 compared with pain thresholds of jumping in females of the same age (ANOVA followed by the Newman-Keuls post hoc test)

(рис. 3, В). Межгрупповых различий у крыс в возрасте 1 и 3 мес не выявлено.

В возрасте 5 мес двухфакторный анализ по факторам «Пол» и «Содержание» выявил статистически значимое влияние фактора «Пол» на ПБР по выпрыгиванию (Two-Way ANOVA,  $F_{(1,59)}=8,624$ ,  $p=0,005$ ). Латентность выпрыгивания была ниже у самцов (Newman-Keuls test,  $p=0,003$ ). Также было выявлено влияние фактора «Содержание» (Two-Way ANOVA,  $F_{(1,59)}=6,883$ ,  $p=0,011$ ). У крыс, подвергнутых изолированному содержанию, латентность выпрыгивания была больше (Newman-Keuls test,  $p=0,006$ ). В возрасте 8,5 мес статистической значимости достигло только влияние фактора «Содержание» (Two-Way ANOVA,  $F_{(1,59)}=9,239$ ,  $p=0,004$ ). Латентность выпрыгивания была больше у изолированных крыс (Newman-Keuls test,  $p=0,004$ ) (рис. 4).

Двухфакторный анализ по факторам «Группа» и «Возраст» выявил статистически значимое влияние фактора «Возраст» ( $F_{(2,110)}=116,951$ ,  $p<0,001$ ) при сравнении латентного периода выпрыгивания у крыс в возрасте 3, 5 и 8,5 мес. Во всех группах в возрасте 5 мес по сравнению с возрастом 3 мес произошло уменьшение латент-



**Рис. 5. Изменение латентного периода выпрыгивания у крыс в возрасте 3, 5 и 8,5 мес (соответственно длительность социальной изоляции – 2, 4 и 7,5 мес). По вертикали – величина ПБР, сек.**

Представлены результаты только по тем крысам, которые продемонстрировали реакцию выпрыгивания на указанных сроках обследования: самки «Контроль», n=14; самки «Изоляция», n=15; самцы «Контроль», n=18; Самцы «Изоляция», n=12. +p<0,05 по сравнению со значением показателя в той же группе крыс в возрасте 3 мес; \*p<0,05 по сравнению со значением показателя в той же группе крыс в возрасте 5 мес (постдисперсионный анализ по тесту Ньюмана-Кеулса).

**Fig. 5. Changes in the latency of jumping in rats aged 3, 5, and 8.5 months (respectively, social isolation lasted for 2, 4, and 7.5 months). Vertical – pain threshold' values, sec.**  
The results are presented only for those rats that showed a jumping reaction at the indicated ages: "Control," n=14; females "Isolation," n=15; males "Control," n=18; Males "Isolation," n=12. +p<0.05 compared with the value in the same group of rats at the age of 3 months; \*p <0.05 compared with the value in the same group of rats at the age of 5 months (ANOVA followed by the Newman-Keuls post hoc test).

ности выпрыгивания (рис. 5). В возрасте 8,5 месяцев по сравнению с возрастом 5 мес уменьшение латентного периода выпрыгивания выявлено только в группе изолированных самок. Влияние фактора «Группа» не достигло уровня статистической значимости. Взаимодействия факторов не обнаружено.

## Обсуждение

В настоящей работе, насколько нам известно, впервые изучена динамика ПБР одновременно у крыс Вистар обоего пола из одних и тех же пометов, на протяжении длительного срока наблюдения – вплоть до возраста 8,5 мес. В течение всего обследования не было выявлено статистически значимых различий в величине ПБР у самцов и самок крыс Вистар, содержавшихся в группах.

Однако длительная социальная изоляция сопровождалась повышением ПБР в тесте «Hot Plate» у крыс обоего пола по сравнению с контрольными животными, то есть наблюдалось снижение болевой чувствительности у крыс-изолянтов независимо от пола. При этом масса тела крыс-изолянтов не отличалась от массы тела животных контрольных групп, как это было неоднократно показано нами ранее [26, 27]. Повышение ПБР сохранялось на протяжении длительного периода действия неблагоприятного стрессогенного фактора: от 2 до 7,5 мес

социальной изоляции. Отметим, что пролонгирование социальной изоляции на такой срок (до 7,5 мес или 30 нед) было применено в настоящем исследовании для того, чтобы смоделировать ситуацию, когда дефицит социальных коммуникаций у человека начинается в раннем возрасте и продолжается десятилетиями, как, например, в случае ранней инвалидизации. Динамика снижения болевой чувствительности у самцов и самок, содержавшихся в условиях социальной изоляции, различалась. В отношении самцов крыс полученные результаты хорошо согласуются с данными других авторов [21, 23], полученными на одном сроке наблюдения. В научной литературе нам не удалось найти данных о влиянии социальной изоляции на величину ПБР у самок крыс, что дает основание рассматривать полученные результаты о снижении у них болевой чувствительности вследствие изолированного содержания как заслуживающие особого внимания.

Представляет интерес обнаруженный в настоящей работе факт влияния фактора «Пол» на болевую чувствительность пятимесячных крыс. В этом возрасте ПБР у самок превышали ПБР у самцов. Учитывая, что на соответствующем данному сроку сроке четырехмесячной изоляции (как и на всех остальных сроках) статистически значимых различий между величинами ПБР у самцов и самок контрольных групп не обнаружено, можно полагать, что более высокие ПБР у самок обусловлены в первую очередь более выраженным повышением ПБР у самок-изолянтов по сравнению с самцами-изолянтами (см. рис. 5). Это предположение находится в соответствии с упомянутыми выше данными о том, что последствия раннего стрессирующего воздействия, проявляющиеся в виде снижения болевой чувствительности, более выражены у особей женского пола [14], для которых характерна повышенная чувствительность к психосоциальному стрессу [28]. Рассматривается ряд факторов, опосредующих пол-специфические различия в восприятии боли [см. обзор 15]. Это нейроанатомические различия: у женщин найдено значительно больше нисходящих нервных проекций околоводопроводного серого вещества среднего мозга к норадренергическим ядрам моста и к ростральному вентромедиальному ядру продолговатого мозга; женщины демонстрируют более выраженную активацию медиальной префронтальной коры, коры островка и передней поясной коры в ответ на термальные и электрические стимулы. Это различия в опиоидной системе: экспрессия  $\mu$ -рецепторов в околоводопроводном сером веществе выше у мужчин, реактивность этих рецепторов у представителей разного пола различается. Это гормональный фактор: эстрогены оказывают бимодальное действие на ноцицепцию, причем эффект зависит от фазы овариального цикла, а действие тестостерона – антиноцицептивное. В механизмы зависящих от пола различий восприятия боли вовлечено взаимодействие опиоидной и гормональной систем, включающее связи рецепторов эстрогенов с  $\delta$ - и  $\kappa$ -опиоидными рецепторами. Оказывают влияние на болевой ответ взаимодействие половых гормонов с иммунной системой, психологические и социокультурные факторы.

Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют в пользу высказанного нами предположения о том, что стрессогенная социальная изоляция, как и другие стресс-воздействия в раннем онтогенезе, может

приводить к разным изменениям болевого ощущения и восприятия боли у взрослых представителей женского и мужского пола.

В нашей работе выявлено уменьшение латентного периода болевых реакций с возрастом при повторных обследованиях в тесте «Hot Plate» у крыс Вистар обоего пола независимо от характера содержания – группового или одиночного (см. рис. 3 и 5), что предполагает наличие общих причин такого снижения ПБР у животных независимо от пола и условий содержания. В исследовании Raut и Ratka [29] при сравнении трех разных групп крыс-самцов другой линии – Fisher 344 – в возрасте 3–6, 9–12 и 21–24 мес также было обнаружено снижение ПБР в тесте «Hot Plate» при старении. По результатам работы авторы связали это снижение с увеличением оксидативного стресса в структурах мозга с возрастом, что приводило к значительному уменьшению антиноцицептивного эффекта опиоидов. При схожести изменений ПБР в указанной работе и нашем исследовании надо отметить существенные отличия в дизайне. Если в нашей работе одних и тех же крыс тестировали 4 раза в разном возрасте, что допускало развитие привыкания к обстановке, то в работе Raut и Ratka [2009] каждую группу крыс тестировали только в одном возрасте, причем в двух группах возраст крыс был значительно больше, чем в настоящем исследовании. Учитывая сказанное, по аналогии, мы можем предположить, что причиной увеличения болевой чувствительности у крыс Вистар при взрослении от 1 до 8,5 мес может быть оксидативный стресс, приводящий к снижению опиоидной ноцицепции в структурах мозга, однако для проверки правильности этого предположения нужны дополнительные исследования. Заслуживает внимания тот факт, что у самок снижение ПБР происходило не так резко, как у самцов. Объяснение может быть связано либо с большей чувствительностью самок к психосоциальному стрессу, сопровождающейся более медленной адаптацией к его действию, либо с возрастными половыми различиями в чувствительности центральных опиоидных рецепторов.

Интересно, что снижение ПБР как у самцов, так и у самок крыс Вистар сопровождалось сменой стратегии избавления от действия термического болевого раздражителя (см. табл. 2): от преимущественного облизывания передней и задней лапок в возрасте 1 мес к выпрыгиванию в возрасте 5 и 8,5 мес, причем на переходном сроке в возрасте 3 мес крысы демонстрировали все три типа болевых реакций. Реакция выпрыгивания является более эффективной стратегией избавления от негативного воздействия. В настоящем

время нет ясного ответа на вопрос, с чем связана такая смена стратегии – со зрелостью мозга и иными путями принятия решения у взрослых крыс, с увеличением размеров тела, позволяющим быстрее обнаружить возможность выпрыгивания из камеры при вставании на задние лапы, или с обучением. Нельзя исключить возможность влияния каждого из этих трех факторов. Однако принимая во внимание данные о том, что при повторных обследованиях мышей в тесте «Hot Plate» результаты зависели от того, насколько животные знакомы с обстановкой и от их обучения [30], мы считаем, что наиболее вероятным объяснением смены стратегии избавления (а возможно, и снижения ПБР) у крыс с возрастом при повторных обследованиях является обучение.

## Заключение

На модели социальной изоляции крыс, начинающейся в раннем возрасте и продолжающейся в течение нескольких месяцев, выявлены различия в динамике болевой чувствительности у самцов и самок крыс. На сроках изоляции 2, 4 и 7,5 мес ПБР у крыс-изолятов были повышенены по сравнению с ПБР у крыс, содержавшихся в группах, однако только через 4 мес изоляции ПБР у самок были выше, чем у самцов. Таким образом, половые различия в болевой чувствительности были выявлены у крыс в зрелом возрасте, что свидетельствует о необходимости длительного, не менее 4 мес, действия стресса социальной изоляции. Данная модель может быть полезной в трансляционных исследованиях для изучения патофизиологических механизмов половых различий в болевой чувствительности и поиска новых эффективных препаратов со свойствами анальгетиков. Использование модели длительной социальной изоляции открывает возможность изучения путей влияния стресса на болевые ощущения у каждого из полов в ключевые моменты развития.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета и не имело спонсорской поддержки.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The study was carried out at the expense of the federal budget and did not have sponsorship

## Список литературы / References

1. Walker A.J., Kim Y., Price J.B., et al. Stress, inflammation, and cellular vulnerability during early stages of affective disorders: biomarker strategies and opportunities for prevention and intervention. *Frontiers in Psychiatry*. 2014; 5, 34. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00034>.
2. Heim C., Plotsky P.M., Nemeroff C.B. Importance of studying the contributions of early adverse experience to neurobiological findings in depression. *Neuropsychopharmacology*. 2004; 29: 641- 648. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1300397>.
3. Vargas J., Junco M., Gomez C., Lajud N. Early life stress increases metabolic risk, HPA axis reactivity, and depressive-like behavior when combined with postweaning social isolation in rats. *PLoS One*. 2016 Sep 9; 11(9): e0162665. doi: 10.1371/journal.pone.0162665.
4. Friedler B., Crapser J., McCullough L. One is the deadliest number: the detrimental effects of social isolation on cerebrovascular diseases and cognition. *Acta Neuropathol*. 2015; 129(4): 493–509. doi:10.1007/s00401-014-1377-9.
5. Duffy K.A., McLaughlin K.A., Green P.A. Early life adversity and health-risk behaviors: proposed psychological and neural mechanisms. *Ann N Y Acad Sci*. 2018; 1428(1): 151–169. doi:10.1111/nyas.13928.

6. Jones G.T., Power C., Macfarlane G.J. Adverse events in childhood and chronic widespread pain in adult life: results from the 1958 British Birth Cohort Study. *Pain*. 2009; 143: 92–96. doi: 10.1016/j.pain.2009.02.003.
7. McLaughlin K.A., Sheridan M.A., Nelson Ch.A. Neglect as a violation of species-expectant experience: neurodevelopmental consequences. *Biol. Psychiatry*. 2017; 82(7): 462–471. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.02.1096>.
8. Mumtaz F., Khan M.I., Zubair M., Dehpour A.R. Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model-A comprehensive review. *Biomed Pharmacother*. 2018; 105: 1205–1222. doi: 10.1016/j.biophys.2018.05.086.
9. Karayannis N.V., Baumann I., Sturgeon J.A., et al. The Impact of Social Isolation on Pain Interference: A Longitudinal Study. *Ann Behav Med*. 2019; 53(1): 65–74. doi: 10.1093/abm/kay017.
10. Oraison H.M., Kennedy G.A. The effect of social support in chronic back pain: number of treatment sessions and reported level of disability. *Disabil Rehabil*. 2019; 28: 1–6. doi: 10.1080/09638288.2019.1668969.
11. Steenstra I.A., Verbeek J.H., Heymans M.W., Bongers P.M. Prognostic factors for duration of sick leave in patients sick listed with acute low back pain: a systematic review of the literature. *Occup Environ Med*. 2005; 62(12): 851–860. doi: 10.1136/oem.2004.015842.
12. Penn T.M., Trost Z., Parker R., et al. Social support buffers the negative influence of perceived injustice on pain interference in people living with HIV and chronic pain. *Pain Rep*. 2019; 4(2): e710. doi: 10.1097/PR9.00000000000000710.
13. Bartley E.J., Fillingim R.B. Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings. *Br J Anaesth*. 2013; 111(1): 52–58. doi: 10.1093/bja/act127.
14. Fillingim R.B., Edwards R.R. Is self-reported childhood abuse history associated with pain perception among healthy young women and men? *Clin J Pain*. 2005; 21: 387–397. doi: 10.1097/01.ajp.0000149801.46864.39.
15. Nasset S.A., Afify E.A. Sex differences in pain and opioid mediated antinociception: Modulatory role of gonadal hormones. *Life Sci*. 2019; 237: 116926. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116926.
16. Fone K.C., Porkess M.V. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents—Relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 2008; 32(6): 1087–1102. doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.03.003.
17. Han X., Wang W., Shao F., Li N. Isolation rearing alters social behaviors and monoamine neurotransmission in the medial prefrontal cortex and nucleus accumbens of adult rats. *Brain Res*. 2011; 1385: 175–181. doi: 10.1016/j.brainres.2011.02.035.
18. Lukkes J.L., Watt M.J., Lowry C.A., Forster G.L. Consequences of post-weaning social isolation on anxiety behavior and related neural circuits in rodents. *Front. Behav. Neurosci*. 2009; 3:18. doi: 10.3389/neuro.08.018.2009.
19. Walker D.M., Cunningham A.M., Gregory J.K., Nestler E.J. Long-Term behavioral effects of post-weaning social isolation in males and females. *Front. Behav. Neurosci*. 2019; 13: 66. doi: 10.3389/fnbeh.2019.00066.
20. Huang Q., Zhou Y., Liu L.Y. Effect of post-weaning isolation on anxiety- and depressive-like behaviors of C57BL/6J mice. *Exp Brain Res*. 2017; 235(9): 2893–2899. doi: 10.1007/s00221-017-5021-5.
21. Meng Q., Li N., Han X., et al. Peri-adolescence isolation rearing alters social behavior and nociception in rats. *Neurosci Lett*. 2010; 480(1): 25–29. doi: 10.1016/j.neulet.2010.05.067.
22. Tuboly G., Benedek G., Horvath G. Selective disturbance of pain sensitivity after social isolation. *Physiol Behav*. 2009; 96(1): 18–22. doi: 10.1016/j.physbeh.2008.07.030.
23. Becker A., Grecksch G., Schröder H. Pain sensitivity is altered in animals after subchronic ketamine treatment. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006; 189(2): 237–247. doi: 10.1007/s00213-006-0557-2.
24. Couderc J.P., Monier C., Bourre J.M., Frances H. Effect of isolation on pain threshold and on different effects of morphine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1997; 21(6): 997–1018. doi: 10.1016/s0278-5846(97)00094-8.
25. Adler M.W., Mauron C., Samanin R., Valzelli L. Morphine analgesia in grouped and isolated rats. *Psychopharmacologia*. 1975; 41(1): 11–14. doi: 10.1007/bf00421298.
26. Крупина Н.А., Хлебникова Н.Н., Орлова И.Н. Ранняя социальная изоляция увеличивает агрессивность и нарушает кратковременное привыкание у крыс. *Патол. физiol. эксперим. тер.* 2015; 59(4): 4–15. doi: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2015.04.4-15> (In Russ.)
- Krupina NA, Khlebnikova NN, Orlova IN [Early social isolation increases aggression and impairs a short-term habituation in acoustic startle reflex in rats]. *Patol Fiziol Eksp Ter*. 2015; 59(4): 4–15.
27. Хлебникова Н.Н., Медведева Ю.С., Крупина Н.А. Ранняя социальная изоляция, вызывающая эмоционально-мотивационные нарушения у крыс, сопровождается дефицитом кратковременного привыкания, но не влияет на пространственную память. *Журн. высш. нервн. деят.* 2018; 68(5): 647–662. doi: 10.1134/S0044467718050052.
- Khlebnikova N.N., Medvedeva Y.S., Krupina N.A. Early social isolation causing emotional motivational alterations in rats, is accompanied by a deficit of short-term habituation, but does not affect spatial memory. *Zh. Vyssh. Nerv. Deyat*. 2018; 68(5): 647–662. (In Russ.)
28. Kaplan J.R., Adams M.R., Clarkson T.B., et al. Psychosocial factors, sex differences, and atherosclerosis: lessons from animal models. *Psychosom Med*. 1996; 58(6): 598–611.
29. Raut A., Ratka A. Oxidative damage and sensitivity to nociceptive stimulus and opioids in aging rats. *Neurobiol Aging*. 2009; 30(6): 910–919. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2007.09.010.
30. Mogil J.S., Wilson S.G., Wan Y. Assessing nociception in murine subjects. In: Kruger L, editor. *Methods in Pain Research*. Boca Raton: CRC Press, 2001. Pp. 11–39.

Поступила: 16.06.2019  
Принята в печать: 14.10.19

Received: 16.06.2019  
Accepted: 14.10.19