

**ВЛИЯНИЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ И ОБОГАЩЕННОЙ СРЕДЫ
НА АКТИВНОСТЬ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-
АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ, БОЛЕВУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
И ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ПОСЛЕ УЛЬЦЕРОГЕННОГО СТРЕССОРА**

© 2024 г. Н. И. Ярушкина¹*, М. Ю. Зенько¹, О. Ю. Морозова¹, О. П. Комкова¹,
К. А. Баранова¹, С. Е. Жуйкова¹, Е. А. Рыбникова¹, Л. П. Филаретова¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

**E-mail: yarushkinani@infran.ru*

Поступила в редакцию 13.09.2024 г.

После доработки 02.10.2024 г.

Принята к публикации 03.10.2024 г.

Полученные нами ранее результаты свидетельствуют о возможности корректирующих эффектов негативных последствий социальной изоляции на функционирование организма с помощью обогащенной среды. Задача настоящей работы заключалась в изучении влияния условий содержания крыс – стандартных условий, социальной изоляции и обогащенной среды – на стресс-реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренортикальной системы (ГТАКС), болевую чувствительность и поведение крыс после действия ulcerogenic stressor. Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Спрейг-Доули. Крысят 30-дневного возраста после отъема от матери помещали на 4 недели в разные условия содержания: стандартные условия (СУ), изоляцию (СИ) или обогащенную среду (ОС). Через 4 недели крыс каждой группы подвергали действию ulcerogenic stressor (УС): 3 ч иммобилизации при холоде (10 °С). Начиная со следующего после действия УС дня, в течение недели у всех групп крыс последовательно оценивали соматическую болевую чувствительность (в тесте «горячей пластины»), поведение (в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт») и стресс-реактивность ГТАКС (по уровню кортикостерона в крови в ответ на слабый процедурный стрессор). Согласно полученным результатам, содержание крыс в условиях СИ в наших экспериментах приводило к более быстрому увеличению массы их тела с увеличением возраста, повышению уровня тревожности, появлению депрессивноподобных реакций у половины исследованных животных, увеличению чувствительности к болевому воздействию. В то же время крысы, содержавшиеся в ОС, отличались повышенной стресс-реактивностью ГТАКС, большей моторной и исследовательской активностью, меньшей тревожностью и меньшей чувствительностью к болевому воздействию. Полученные результаты представляют новые аргументы в пользу ранее сделанного нами заключения о том, что СИ оказывает дезадаптивное влияние на общее функциональное состояние организма, а ОС, напротив, приводит к адаптивным изменениям. Проведенное исследование акцентирует внимание на важности интегративного подхода при исследовании эффектов СИ и ОС на организм.

Ключевые слова: социальная изоляция, обогащенная среда, стресс, глюкокортикоидные гормоны, стресс-реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренортикальной системы, эрозия желудка, поведение, болевая чувствительность

DOI: 10.31857/S0869813924090162, **EDN:** A1OKOL

ВВЕДЕНИЕ

Социальная изоляция (недостаточный уровень социальных контактов с окружающими, объективное ощущение одиночества) и одиночество (субъективное ощущение) – явления мирового масштаба [1]. Высокий уровень социальной изоляции и одиночества приводит к серьезным негативным последствиям для здоровья населения. Многочисленные исследования демонстрируют негативные эффекты социальной изоляции на различные аспекты здоровья, включающие как психическое, так и физическое благополучие [2–5]. Люди, не имеющие достаточно прочных социальных связей, подвержены повышенному риску инсульта, тревожных расстройств, депрессии [1, 6]. Особенно уязвимы к воздействию социальной изоляции пациенты с хронической болью, сопровождающейся повышенной тревожностью и депрессией [6]. Социальная изоляция, являющаяся психоэмоциональным стрессором, приводит к обострению многих хронических заболеваний [3], а также вносит значимый вклад в развитие сердечно-сосудистых заболеваний [1, 7, 8]. Социально изолированные пожилые люди более подвержены развитию и рецидивам язвенной болезни желудка [2].

Для социально изолированных людей показан и повышенный риск смертности. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что риск смертности при социальной изоляции и одиночестве сопоставим или даже превосходит риски смертности, связанные с ожирением, курением, чрезмерным употреблением алкоголя, недостаточной физической активностью [1]. В то же время в литературе приводятся факты о том, что наличие социальных связей является защитным фактором и повышает шансы на выживание до 50% [1].

Пандемия коронавирусной инфекции COVID-19, оказавшая беспрецедентное воздействие на здоровье людей [8, 9], резко обострила проблему социальной изоляции. Ограничение социального взаимодействия во время пандемии COVID-19 привело к повышению тревожности и депрессии как у взрослых, так и у подростков [4, 5].

О признании значимости проблемы социальной изоляции на международном уровне свидетельствует тот факт, что в ноябре 2023 г. ВОЗ объявила об учреждении новой комиссии по социальным связям, которая начала заниматься проблемой изоляции и одиночества как серьезной угрозой здоровью человека. Признание этого факта стимулирует поиск мер, направленных на борьбу с негативным влиянием социальной изоляции, и эта ситуация является триггером для дальнейшего развития исследований данной проблемы на животных.

Одним из эффективных подходов для предотвращения и уменьшения негативных последствий изоляции является «обогащение» окружающей среды (Environmental Enrichment или Enriched Environment). Показано, что обогащенная среда может уменьшать тревожность и депрессию, улучшать обучение, память [10]. Факторы «обогащения» среды, такие как физическая активность, рисование, музыка, «виртуальная реальность» и многие другие, оказывают благотворное влияние на организм при различных заболеваниях [11, 12].

Для создания обогащенной среды в экспериментах на животных не существует единого протокола. Тем не менее наиболее распространенный «условный протокол», который используется нами в исследованиях на крысах, подразумевает содержание животных (как минимум 30 дней) в большой клетке с разнообразными предметами, которые часто заменяются и передвигаются, с обязательным социальным контактом с сородичами. При этом крысы помещаются в обогащенную среду часто (хотя и не всегда) сразу после отъема от матери. Комплекс мероприятий по созданию обогащенной среды направлен на обеспечение трех ключевых аспектов ее обогащения: новизны, социального контакта и повышенной физической активности [13].

Первые исследования с использованием «обогащенной среды» были выполнены давно. Согласно одному источнику [14] впервые обогащенную среду для содержа-

ния животных использовал Hebb в 1947 г. с целью изучения ее влияния на обучение и память. Другие авторы [13] приписывают начало современных исследований с обогащенной средой группе ученых – Diamond, Krech и Rosenzweig, которые в 1964 г. показали, что крысы, выращенные в обогащенных условиях, имеют более высокие когнитивные способности, чем крысы, выращенные в условиях социальной изоляции [15]. Эти работы послужили стимулом для дальнейших исследований с использованием обогащенной среды, результаты которых привели к заключению, что этот простой, недорогой, немедикаментозный и нехирургический подход является чрезвычайно эффективным.

Показано, что содержание животных в обогащенной среде улучшает память, способность к обучению [10, 16, 17], увеличивает общительность [18], снижает стимулирующие и мотивационные эффекты наркотиков, алкоголя и вероятность рецидивов их приема [19, 20]. Обогащенная среда эффективно используется и для устранения негативных последствий социальной изоляции [21], в том числе таких, как депрессивно-подобное поведение [22], повышенная тревожность [10].

После пандемии наблюдается новый всплеск интереса к изучению влияния условий содержания лабораторных животных на их состояние [5, 10, 23]. Однако при этом по-прежнему основной интерес в большинстве работ сосредоточен на обучении, памяти, поведении, и гораздо меньшее внимание уделяется изучению эффектов окружающей среды на висцеральную сферу. Существенным ограничением этих исследований является недостаточное внимание к тому, как условия окружающей среды влияют на общее функциональное состояние организма (состояние сердечно-сосудистой, дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, болевой чувствительности) и реакции на стрессорные воздействия.

В наших исследованиях мы стремимся заполнить пробел в этих знаниях, используя интегративный подход для изучения влияния условий содержания на общее состояние организма. Важно отметить, что как социальная изоляция, так и обогащенная среда являются стрессорами, воздействующими на весь организм. При этом мы исследуем влияние изоляции и обогащенной среды (как самой по себе, так и при реверсии условий содержания от изоляции к обогащенной среде и наоборот) на активность ключевой гормональной системы стресса – гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГТАКС), общее функциональное состояние организма крыс и развитие стрессиндуцированных заболеваний. Полученные нами ранее результаты свидетельствуют о возможности корректирующих эффектов негативных последствий социальной изоляции на функционирование организма с помощью обогащенной среды [24]. Настоящая работа является продолжением этих исследований.

Задача настоящей работы заключалась в изучении влияния условий содержания крыс – стандартных условий, социальной изоляции и обогащенной среды на стрессреактивность ГТАКС, болевую чувствительность и поведение крыс после действия ультракороткого стрессора.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Спрейг-Доули из ЦКП «Биоколлекция Института физиологии им. И.П. Павлова РАН» (Колтуши, Ленинградская обл.). Крысята 30-дневного возраста сразу после отъема от матери помещались на 30 дней в разные условия содержания: стандартные условия (СУ), социальную изоляцию (СИ) или обогащенную среду (ОС). В изоляции животные содержались по одной в стандартных непрозрачных пластиковых клетках для крыс (54 x 38 x 20 см), не имея физического и визуального контакта с другими крысами. В обогащенной среде крысы содержались по 6 особей в больших решетчатых клетках (100 x 50 x 80 см) с разными «обогащающими» аксессуарами: беговым колесом, домиками для укрытия, полками,

лестницами, трубами, гамаками, ванночками с водой и игрушками. Набор аксессуаров менялся три раза в неделю, за исключением бегового колеса, доступ к которому был открыт постоянно. Контролем для групп социальной изоляции и обогащенной среды являлись крысы, содержащиеся в стандартных непрозрачных пластиковых клетках по 6 штук (стандартные условия).

На протяжении 30-дневного периода еженедельно оценивали массу тела крыс во всех группах. Через 30 дней содержания в разных условиях – СУ, СИ или ОС – крысы были разделены на две группы, и эксперименты были продолжены согласно схеме (рис. 1).

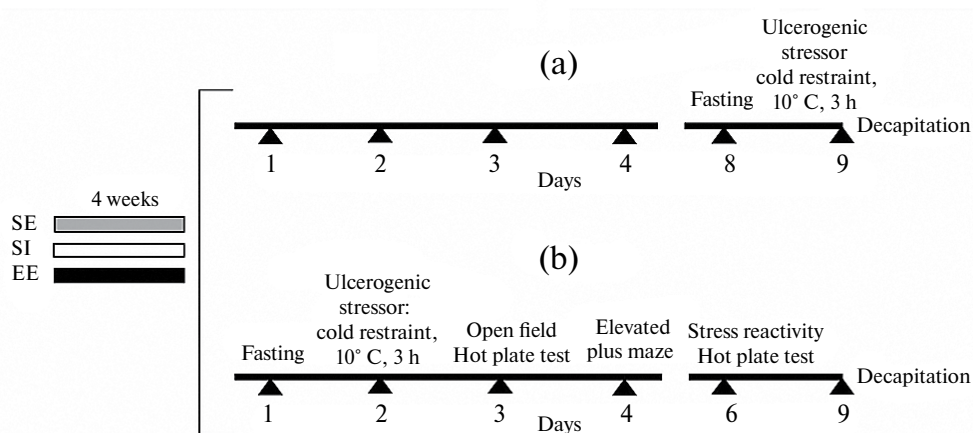


Рис. 1. Экспериментальная схема. Крысята 30-дневного возраста помещались на 4 недели в разные условия содержания: стандартные условия (СУ), социальную изоляцию (СИ) или обогащенную среду (ОС). Затем они были разделены на две группы, каждая из которых подвергалась действию ulcerогенного стрессора (УС): 3 ч иммобилизация при холоде (10 °С). В первой группе (а) исследовали влияние условий содержания только на чувствительность слизистой оболочки желудка к действию УС (эксперимент 1), во второй группе (б) изучали влияние условий содержания на поведение, стресс-реактивность ГТАКС и соматическую болевую чувствительность после действия УС (эксперимент 2).

В отдельном эксперименте, выполненном на отдельно подготовленных группах животных, было исследовано влияние условий содержания крыс – СУ, СИ, ОС – на стресс-реактивность ГТАКС в отсутствие действия УС. Схема этого эксперимента была аналогичной схеме эксперимента 1, однако при этом вместо предъявления ulcerогенного стимула тестировалась стресс-реактивность.

УС (3 ч иммобилизация при холоде, 10 °С) предъявляли крысам на фоне предварительного 24-часового голода, что уже через 3 ч действия УС приводило к образованию эрозий в слизистой оболочке желудка. В эксперименте 1 крыс декапитировали сразу после завершения действия УС. После декапитации извлекали желудок для оценки состояния его слизистой оболочки и собирали кровь из сосудов туловища для оценки уровня кортикостерона в крови. Площадь эрозий оценивали с помощью модифицированной компьютерной программы Image J [25].

В эксперименте 2 со следующего дня после действия УС (день 3) в течение недели на одних и тех же крысах последовательно тестировали поведение, соматическую болевую

чувствительность и стресс-реактивность ГГАКС, затем (день 8) крыс декапитировали и собирали кровь из сосудов туловища для оценки уровня кортикостерона в крови (рис. 1).

Поведение животных изучали с применением стандартных тестов «открытое поле» (тестирование реакции на стресс новизны, общей двигательной активности), «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (анализ уровня тревожности). Исследование в тесте «открытое поле» проводили на следующий день после УС (день 3), в тесте ПКЛ – через день после УС (день 4).

Соматическую болевую чувствительность оценивали на основании латентного периода (ЛП) реакции облизывания лап в тесте «горячей пластины» (ООО «Алгоритм», Россия) при температуре 52 °С. Соматическую болевую чувствительность тестировали дважды: на 2-й (день 3) и 5-й день после действия УС (день 6). Между первым и вторым тестированием соматической болевой чувствительности осуществлялось тестирование поведения и стресс-реактивности ГГАКС. Интервал между тестированием соматической болевой чувствительности и предшествующим тестированием поведения или стресс-реактивности ГГАКС составлял не менее 3 ч. Тестирование ЛП болевой реакции проводилось в одно и то же время суток.

Стресс-реактивность ГГАКС оценивали на основании уровня кортикостерона в плазме крови в ответ на слабый процедурный стрессор (взятие крыс в руки, забор проб крови из кончика хвоста) через 30 и 60 мин после начала стрессорной процедуры. Уровень кортикостерона в плазме крови определяли иммуноферментным методом с использованием набора реагентов «Кортикостерон крыса/мышь-ИФА» («ХЕМА») на анализаторе Star Fax 2100 (Awareness Technology Inc, США).

Результаты исследования были проанализированы с помощью программы MedCalc Version 12.2.1.0. (Статистика для биомедицинских исследований, MedCalc Software, Бельгия). Двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений (Repeated measures ANOVA) был использован для анализа изменения массы тела, стресс-реактивности ГГАКС и соматической болевой чувствительности. Для оценки нормальности распределения использовали Kolmogorov-Smirnov test. Для оценки равенства дисперсий использовали Levene's test. В случае, когда гипотеза о равенстве дисперсий отвергалась, применяли непараметрический Kruskal-Wallis test. Однофакторный дисперсионный анализ (One way ANOVA) или Kruskal-Wallis тест был использован для сравнения площадей поражения слизистой оболочки желудка, уровней кортикостерона в плазме крови после декапитации крыс. Зависимость между уровнями кортикостерона в плазме крови и соматической болевой чувствительностью у крыс с активной и пассивной стратегией поведения оценивали на основании корреляции Пирсона (Pearson's correlations). Различия между группами в тестах «открытое поле» и ПКЛ оценивали с помощью теста Манна – Уитни. Данные представлены как среднее значение \pm SEM. Различия между группами считались значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние условий содержания крыс на массу тела

Условия содержания крыс влияли на изменение их массы тела. Содержание крыс в условиях СИ в течение 30 дней приводило к достоверно ($p < 0.05$) более быстрому увеличению их массы тела по сравнению с животными, содержащимися в ОС и СУ (рис. 2). Увеличение массы тела у крыс в условиях СИ по сравнению с массой тела крыс из ОС наблюдалось, начиная со второй недели содержания. Через три недели содержания масса тела у крыс в условиях СИ увеличивалась еще больше и превышала таковую уже не только у крыс из ОС, но и у животных, содержащихся в СУ (рис. 2). У крыс, содержащихся в ОС и СУ, достоверных отличий между массой тела обнаружено не было.

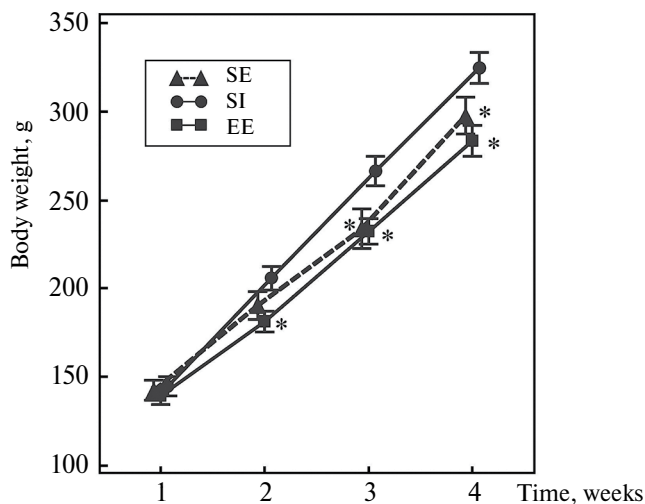


Рис. 2. Влияние условий содержания крыс на изменение массы тела в период, предшествующий экспериментам 1 и 2. Достоверность отличий при $p < 0.05$: * от группы «социальная изоляция» (СИ), ОС – обогащенная среда, СУ – стандартные условия. Количество случаев в группе $n = 11-12$.

Влияние условий содержания крыс на уровень кортикостерона в крови и образование эрозий в слизистой оболочке желудка через 3 ч после начала действия ulcerогенного стрессора

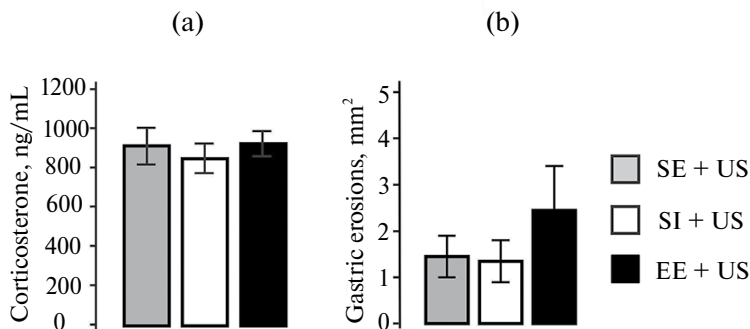


Рис. 3. Влияние условий содержания крыс на уровень кортикостерона в плазме крови после действия ulcerогенного стрессора (3 ч иммобилизация при холоде, 10°C) (а) и среднюю площадь эрозий в желудке, индуцированных действием данного стрессора (б). ОС – обогащенная среда, СИ – изоляция, СУ – стандартные условия. Количество крыс: (а) – $n = 10-11$; (б) – $n = 12$.

После действия ulcerогенного стрессора (3 ч иммобилизация, 10°C) не было обнаружено достоверных отличий между средними уровнями кортикостерона у крыс, содержащихся в СУ, ОС и СИ (рис. 3а). Трехчасовая иммобилизация при температуре 10°C на фоне 24 ч голода приводила к появлению эрозивных повреждений в слизистой оболочке желудка крыс всех групп. Достоверных отличий ($p = 0.86$) в средней площади эрозивных повреждений желудка между группами также не было выявлено (рис. 3б).

Влияние условий содержания крыс на стресс-реактивность ГТАКС

Содержание крыс в условиях СИ не приводило к изменению стресс-реактивности ГТАКС в ответ на слабый процедурный стрессор (взятие крыс в руки, забор проб крови из кончика хвоста) по сравнению с таковой у контрольных крыс (СУ). В то же время содержание крыс в ОС вызывало повышение стресс-реактивности ГТАКС (рис. 4а).

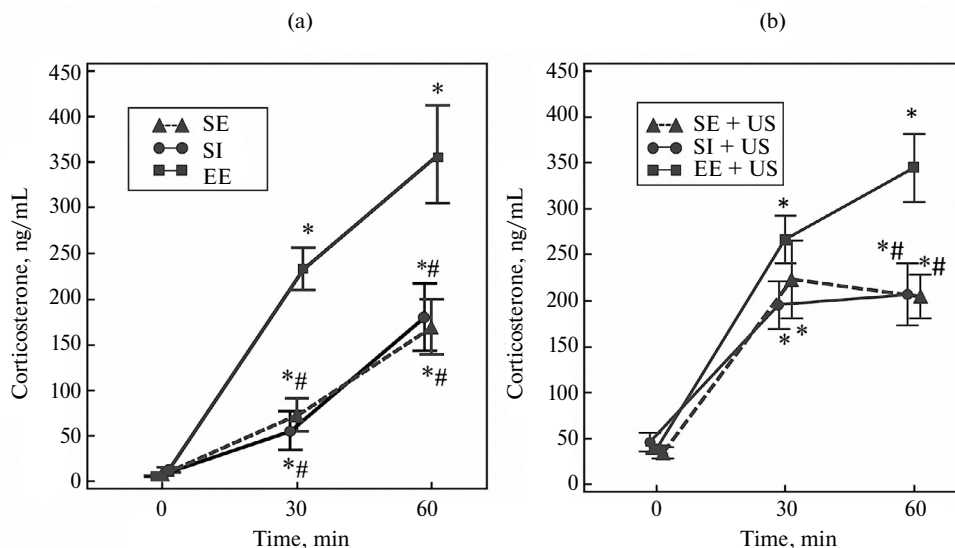


Рис. 4. Влияние условий содержания крыс на стресс-реактивность ГТАКС без ультразвукового стрессора (а) и в условиях его действия (3 ч иммобилизация, 10 °С) (б). Достоверность отличий при $p < 0.05$: * от базального уровня (0 точка); # от группы ОС (обогащенная среда). СИ – изоляция, СУ – стандартные условия. Количество случаев в группе $n = 6$.

Исходные (базальные) уровни кортикостерона в плазме (0 точка) достоверно не отличались ($p = 0.08$ (рис. 4а); $p = 0.73$ (рис. 4б)) между группами, содержащимися в ОС, СУ и СИ.

Слабый процедурный стресс приводил к повышению уровня кортикостерона в плазме крови (рис. 4). В отсутствие действия УС у всех групп животных через 30 мин наблюдалось увеличение уровня кортикостерона по сравнению с базальным уровнем, которое сохранялось и на 60-й минуте, при этом были обнаружены различия между группами как по величине уровня кортикостерона в ответ на процедурный стресс, так и по его динамике (рис. 4а). Крысы из ОС имели более высокий уровень кортикостерона в ответ на процедурный стресс на 30-й и 60-й минуте по сравнению с другими группами (рис. 4а), то есть они обладали большей стресс-реактивностью ГТАКС по сравнению с крысами из СУ и СИ. В группе ОС уровень кортикостерона сразу достигал своего максимума для данных условий и далее не изменялся (не было достоверных отличий между уровнями кортикостерона на 30-й и 60-й минуте), тогда как в группах СИ и СУ наблюдалось постепенное увеличение уровня кортикостерона, о чем свидетельствуют достоверные отличия ($p < 0.001$) между уровнями кортикостерона на 30-й и 60-й минуте.

Как и в отсутствие действия УС, после его применения у всех групп животных наблюдалось увеличение уровня кортикостерона на 30-й и 60-й минуте по сравнению с базальным уровнем, а также были обнаружены достоверные различия между группами (рис. 4б). Большая стресс-реактивность крыс из ОС по сравнению с другими группами

пами сохранялась и в условиях действия УС. Об этом свидетельствует более высокий уровень кортикостерона у крыс из ОС по сравнению с крысами из СУ и СИ, однако данный эффект проявлялся только на 60-й минуте, тогда как на 30-й минуте достоверные отличия между группами отсутствовали ($p = 0.15$). Несмотря на то, что величина подъема уровня кортикостерона отличалась между группами, его динамика после действия УС была схожей во всех группах: уровень кортикостерона повышался на 30-й минуте и далее достоверно не изменялся (ни в одной из групп не было обнаружено достоверных отличий между точками 30 и 60 минут).

Группы СУ и СИ не отличались между собой ни по величине уровня кортикостерона в ответ на процедурный стресс, ни по его динамике, как в условиях действия УС, так и без него. При этом следует отметить, что в условиях предварительного ulcerогенного воздействия у этих групп (СУ и СИ) максимальный уровень кортикостерона в крови наблюдался раньше, уже на 30-й минуте, а не на 60-й, как это было в условиях без предварительного ulcerогенного воздействия.

Влияние условий содержания крыс на реактивность к ulcerогенному стрессору: поведенческие исследования

Тест «Открытое поле»

При анализе поведения в тесте «Открытое поле» было обнаружено, что животные в группе СИ диаметрально различались по реакции на стресс, вырабатывая либо пассивную, либо активную поведенческую стратегию. В соответствии с этим экспериментальная группа СИ была разделена в поведенческих исследованиях на 2 подгруппы: активной (58% животных) и пассивной стратегии (42% животных), которые анализировались отдельно. Кроме того, эти подгруппы отдельно были проанализированы и в отношении болевой чувствительности.

Воздействие УС само по себе не оказало влияния на поведенческие показатели в «открытом поле» животных, содержащихся в СУ (рис. 5). У крыс пассивной подгруппы СИ с последующим воздействием УС наблюдалось более чем трехкратное снижение двигательной активности, прежде всего горизонтальной (рис. 5). Их двигательная активность была значимо снижена по сравнению с таковой у животных других экспериментальных групп, в том числе содержащихся в СУ или ОС (рис. 5). Достоверное, но менее выраженное снижение двигательной активности после действия УС наблюдалось также в группе крыс, содержащихся в ОС (рис. 5).

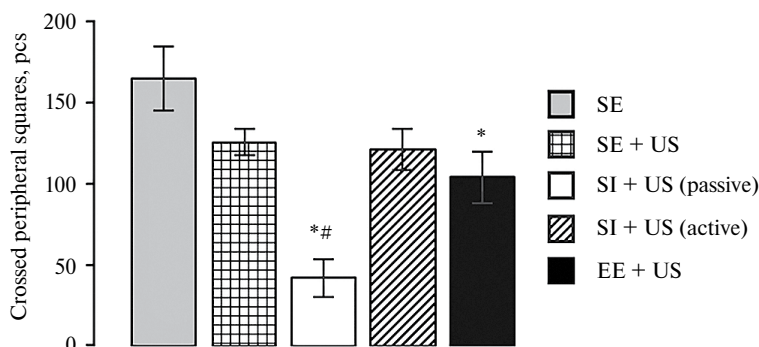


Рис. 5. Двигательная активность в «открытом поле»: количество пересеченных периферических квадратов. УС – ulcerогенный стрессор. Достоверность отличий при $p < 0.05$: * от СУ, # от всех остальных групп. СУ – стандартные условия, СИ – изоляция, ОС – обогащенная среда. Количество случаев в группах: $n = 6$ (СУ); $n = 18$ (СУ+УС); $n = 12$ (СИ+УС) и (ОС+УС).

Животные всех исследованных групп не имели достоверных отличий по времени груминга и количеству актов дефекации, которые могли бы свидетельствовать об эмоциональности, смещенной или стереотипной поведенческой активности.

Таким образом, по реакции на стрессор в группе СИ+УС животные приблизительно поровну разделяются на уязвимых (демонстрирующих депрессивноподобные реакции, пассивная подгруппа) и устойчивых (по реакции на СИ и УС не отличающихся от СУ, активная подгруппа). Подобная сниженная двигательная активность животных в тесте «открытого поля» может отражать выбор пассивных стрессорных копинг-стратегий или моторную заторможенность, характерную для постстрессорных депрессивноподобных состояний. УС в группе СУ не приводил к достоверным изменениям поведения. При этом содержание в ОС с последующим УС также незначительно, но достоверно снижало двигательную активность крыс относительно группы СУ, однако при этом животные данной группы значимо (более чем в 2 раза) отличались от пассивной подгруппы изоляции более высокой двигательной активностью.

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»

В тесте ПКЛ сам по себе УС также не оказывал влияния на поведение животных, в частности, не обладал анксиогенным эффектом. Однако его сочетание с предварительной СИ значительно повышало уровень тревожности, что выражалось в достоверно меньшем количестве времени, проведенном в центре, а также выходов в центр и открытые рукава установки ПКЛ у всех крыс группы СИ+УС (рис. 6а, б, d). Время, проведенное в открытых рукавах ПКЛ, также имело тенденцию к снижению в группе СИ+УС, однако статистическая значимость по данному показателю не была достигнута вследствие большого разброса значений в контрольной группе (СУ) (рис. 6с). Не наблюдалось различий между группами СУ (контроль), СУ+УС, ОС+УС ни по одному из исследуемых показателей, характеризующих уровень тревожности. При этом время,

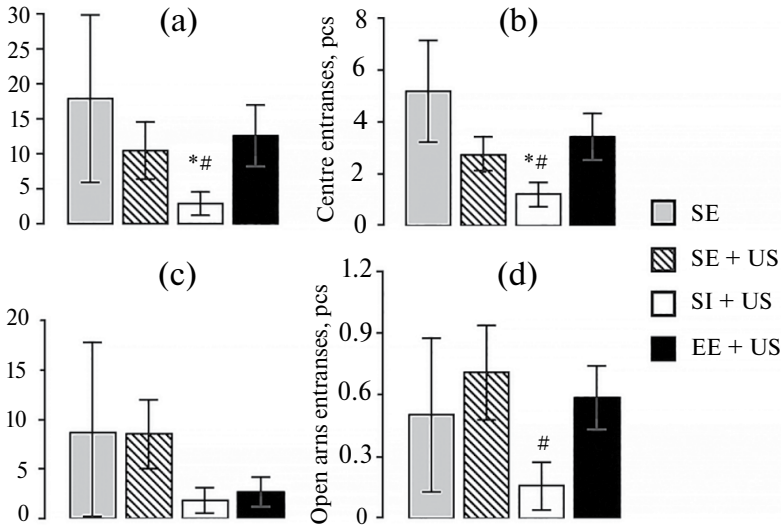


Рис. 6. Поведение животных в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». (а) – время в центре установки, (б) – количество выходов в центр, (с) – время в открытых рукавах, (d) – количество выходов в открытые рукава. УС – ультрагенный стрессор. Достоверность отличий при $p < 0.05$: * от СУ, # от ОС. СУ – стандартные условия, СИ – изоляция, ОС – обогащенная среда. Количество случаев в группах: $n = 6$ (СУ); $n = 18$ (СУ+УС); $n = 12$ (СИ+УС) и (ОС+УС).

проведенное в центре (рис. 6а), а также число выходов в центр и открытые рукава (рис. 6б, d) в группе ОС+УС были достоверно выше, чем в группе СИ+УС.

Важно отметить, что в отличие от «открытого поля» при тестировании в ПКЛ группа СИ не распадалась на две подгруппы с различающимися поведенческими реакциями. Это хорошо согласуется и с полученными данными по стресс-реактивности ГТАКС, при анализе которых было выявлено, что группы изолированных крыс с активной и пассивной стратегией поведения не отличаются между собой по стресс-реактивности ГТАКС. Не было обнаружено достоверных отличий между данными группами ни по уровню кортикостерона, ни по его динамике. Уровни кортикостерона на 60-й минуте у крыс, содержащихся в СИ, как с активной, так и пассивной стратегией поведения были достоверно меньше по сравнению с уровнем кортикостерона у крыс из ОС.

Таким образом, длительное нахождение крыс в СИ приводило к повышенному уровню тревожности в тесте ПКЛ. Повышенный уровень тревожности и сниженный уровень исследовательской активности в тесте ПКЛ может свидетельствовать об анксиогенном эффекте социальной изоляции у исследуемых крыс, причем данное тревожное состояние формировалось у большинства животных, в отличие от нарушений поведения у части изолированных животных, выявленных в тесте «открытого поля». Животные, содержащиеся в ОС, по уровню тревожности в ПКЛ не отличались от крыс группы СУ и СУ+УС.

Влияние условий содержания на соматическую болевую чувствительность крыс

Содержание крыс в различных условиях оказало влияние на соматическую болевую чувствительность в условиях действия УС. На следующий день после предъявления УС (день 3 на схеме, рис. 1) были обнаружены достоверные отличия между латентными периодами (ЛП) болевой реакции в ответ на действие термического стимула у крыс, содержащихся в различных группах (СУ, СИ и ОС). Крысы, содержащиеся в СИ, оказались наиболее чувствительны к действию термического болевого стимула: ЛП реакции облизывания лап в данной группе был достоверно меньше ($p < 0.05$) по сравнению с таковым в группах СУ и ОС. В то же время крысы, содержащиеся в ОС, имели наименьшую чувствительность к действию термического болевого стимула по сравнению с чувствительностью к данному стимулу крыс из СУ и СИ. ЛП данной группы во всех случаях существенно превышали ($p < 0.05$) ЛП, измеренные у других групп крыс (рис. 7). В свою очередь, ЛП крыс из СУ достоверно ($p < 0.05$) превышали ЛП у крыс, находящихся в условиях СИ, но были меньше, чем ЛП болевой реакции у крыс из ОС. При втором

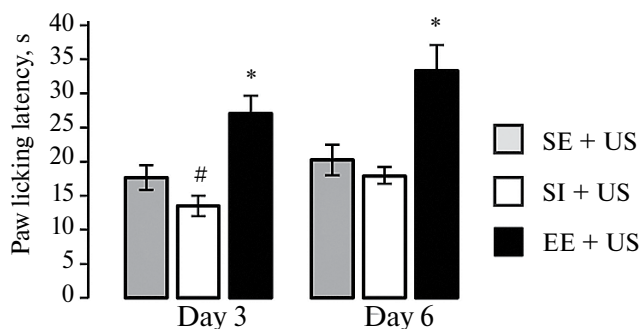


Рис. 7. Влияние условий содержания крыс на соматическую болевую чувствительность крыс в тесте «горячей пластины» на следующий день (день 3) и на 5-й день (день 6) после действия ультракороткого стрессора (3 ч иммобилизация, 10 °С). Достоверность отличий при $p < 0.05$: * от групп СИ+УС и СУ+УС; # от группы СУ (стандартные условия). ОС – обогатщенная среда, СИ – социальная изоляция, УС – ультракороткий стрессор. Количество случаев в группе $n = 10-12$.

тестировании ЛП болевой реакции, так же как и при первом тестировании, крысы из ОС были наименее чувствительны к действию болевого раздражителя: не было обнаружено отличий между ЛП у крыс, содержащихся в условиях СИ и СУ на 5-й день после действия УС (день 6 на схеме, рис. 1), но при этом ЛП болевой реакции у крыс из ОС оставался стабильным и достоверно ($p < 0.05$) превышал ЛП у крыс из групп СУ и СИ.

Поскольку в тесте «открытое поле» было продемонстрировано разделение крыс, содержащихся в СИ, на две подгруппы – с активной и пассивной стратегией поведения, в данных подгруппах мы оценивали также и соматическую болевую чувствительность. Сравнение средних ЛП реакции облизывания лап у крыс, находящихся в условиях СИ с пассивной (16.3 ± 1.9 с, $n = 5$) и активной (12.7 ± 2.1 с, $n = 7$) стратегией поведения, не выявило достоверных отличий между данными группами. Однако средние ЛП как «пассивных», так и «активных» крыс были достоверно ($p < 0.05$) меньше по сравнению с ЛП в группе крыс из ОС, причем у «активных» крыс они были достоверно ($p < 0.05$)

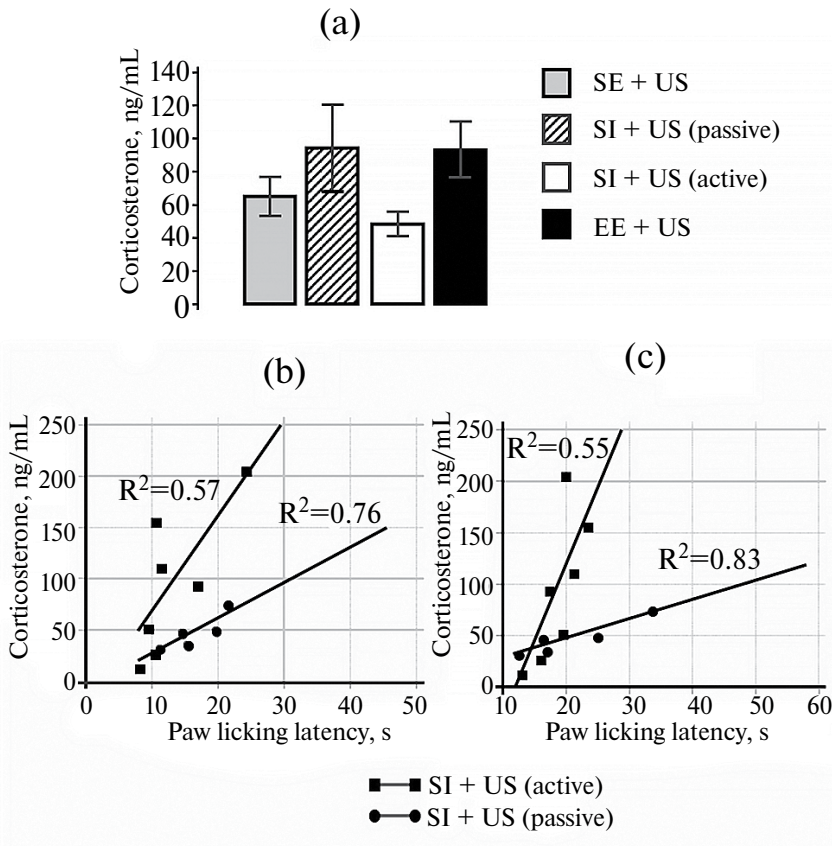


Рис. 8. Средние уровни кортикостерона в плазме у крыс с активной и пассивной стратегией поведения, содержащихся в социальной изоляции (СИ), и крыс, содержащихся в обогащенной среде (ОС) и стандартных условиях (СУ) после действия ультракороткого стрессора (УС) (а), а также зависимость между уровнем кортикостерона в плазме крови и соматической болевой чувствительностью у крыс с активной и пассивной стратегией поведения после первого (б) и второго (в) тестирования соматической болевой чувствительности. Достоверность отличий при $p < 0.05$: * от группы ОС+УС. Количество случаев в группах: $n = 5$ (СИ (пассивная)); $n = 7$ (СИ (активная)); $n = 11$ (СУ); $n = 12$ (ОС).

меньше не только по сравнению с группой ОС (27.0 ± 2.7 с, $n = 12$), но и по сравнению с группой СУ (22.0 ± 2.8 с, $n = 11$). При этом было показано, что уровень кортикостерона у «пассивных» крыс, содержащихся в группе СИ, достоверно ($p < 0.05$) ниже по сравнению с уровнями кортикостерона у крыс, содержащихся в ОС (рис. 8а).

Была обнаружена корреляционная зависимость между уровнем кортикостерона и ЛП реакции облизывания лап, измеренными у одних и тех же крыс как с пассивной, так и активной стратегией поведения, находящихся в условиях СИ. Коэффициенты корреляции для «активных» и «пассивных» крыс в группе СИ при первом тестировании соматической болевой чувствительности после действия УС (день 3) составляли 0.75 ($p = 0.058$) и 0.87 ($p < 0.05$) соответственно; а при втором тестировании (день 6) – 0.74 ($p < 0.05$) и 0.94 ($p < 0.02$) соответственно. Таким образом, меньшему ЛП и, следовательно, большей чувствительности к термическому болевому стимулу соответствовал более низкий уровень кортикостерона в крови (рис. 8б и с).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенного сравнительного исследования свидетельствуют о том, что условия содержания крыс в течение 1 месяца после отъема от матери – СИ, ОС и СУ – влияют на функциональное состояние организма, их стрессоустойчивость и поведение. СИ крыс приводила к более быстрому увеличению массы их тела с увеличением возраста, повышению уровня тревожности, появлению депрессивноподобных реакций у половины исследованных животных, увеличению чувствительности к болевому воздействию. В то же время крысы, содержащиеся в ОС, отличались повышенной стресс-реактивностью ГТАКС, большей моторной и исследовательской активностью, меньшей тревожностью и меньшей чувствительностью к болевому воздействию. Полученные данные свидетельствуют о том, что СИ крыс оказывает негативное влияние на общее функциональное состояние их организма, ОС, напротив, приводит к позитивным изменениям в организме.

В нашей работе изменения условий содержания крыс начались с первого месяца после отъема от матери, поскольку известно, что СИ в раннем возрасте приводит к негативным последствиям для организма. Нарушение социального взаимодействия в ранние критические периоды развития негативно влияет на когнитивные, социальные и речевые способности и в дальнейшем может повышать предрасположенность к развитию тревожных или депрессивных расстройств [4], увеличивать риск употребления наркотиков и алкоголя [20].

Выявленное влияние СИ на повышение массы тела у крыс с увеличением их возраста хорошо согласуется с данными литературы [26–28]. Одной из причин такого последствия СИ может являться увеличенное потребление пищи вследствие нарушения пищевого поведения [26, 27].

Влияние СИ и ОС на активность ГТАКС, болевую чувствительность и поведение крыс исследовали после действия УС (3 ч иммобилизации при холоде), которому подвергались крысы через 4 недели после их содержания в разных условиях. Включение УС в схему основного эксперимента (рис. 1б), а также в отдельный самостоятельный эксперимент (рис. 1а) было сделано по двум причинам.

Первая причина определяется нашим интересом к проблеме язвообразования в желудке, изучением которой мы занимаемся [29–32], фокусируясь на выявленной нами роли глюкокортикоидных гормонов в гастропротекции [33, 34]. Один из важных аспектов этих исследований связан с выяснением целостной картины состояния организма при язвообразовании в желудке, отражающей как влияние общего состояния организма на процесс язвообразования [35–37], так и влияние язвенной патологии на общее состояние организма [38]. Согласно результатам настоящей работы, СИ или ОС не оказали значимого влияния ни на образование эрозий в слизистой оболочке желудка, ни на уровень кортикостерона в крови через 3 ч после начала действия УС. Слишком сильное

стрессорное воздействие (иммобилизация при холоде) могло нивелировать эффекты предшествующих условий содержания животных. Это предположение поддерживают данные об усугубляющем влиянии СИ на язвообразование в желудке, индуцированное более мягкими ulcerогенными стимулами, например, такими как иммобилизация без холода [39] или 2-часовое действие индометацина [24]. Отсутствие влияния условий содержания на стресс-индуцированный гормональный ответ хорошо согласуется с отсутствием их влияния и на стресс-индуцированные эрозии. Согласно результатам наших работ, направленных на оценку гастропротективной роли глюкокортикоидных гормонов, продуцирующихся при стрессе, усугубление образования эрозий, индуцированных 3-часовой иммобилизацией при холоде, наблюдается при существенном снижении стресс-индуцированной продукции кортикостерона у крыс [33]. Условия содержания крыс – ОС и СИ – являются умеренными воздействиями, после которых, вероятно, стоит ожидать изменений в стресс-реактивности ГГКС лишь на более слабые стрессоры, что мы и показали в настоящей работе с использованием слабого процедурного стрессора.

Другая причина проведения исследований с включением в эксперимент УС связана с недостатком работ о влиянии СИ и ОС на стрессоустойчивость и поведение с использованием физических стрессоров. При исследовании влияния условий содержания на поведение и стрессоустойчивость обычно изучают реакцию крыс на психоэмоциональный, социальный стрессор (тесты на социальное взаимодействие или поражение) [13], мало работ, в которых используется физический (иммобилизация, холод) стрессор [40].

Важным показателем функционального состояния любой гормональной системы является ее реактивность на воздействия, при этом оцениваются: фазность реакции, ее амплитуда, скорость выключения. С целью анализа реактивности ГГКС на более слабое стрессорное воздействие исследовали выброс кортикостерона в ответ на слабый процедурный стрессор. Было установлено, что содержание животных в ОС с последующим УС, а также и без него приводит к умеренному повышению стресс-реактивности ГГКС. Аналогичный профиль динамики активации ГГКС был ранее описан нами для гипоксического прекондиционирования – немедикаментозного воздействия, значительно повышающего устойчивость к неблагоприятным факторам, в том числе стрессорам [41]. Модификация стресс-реактивности ГГКС, очевидно, представляет собой один из важных механизмов, обеспечивающих повышение стрессоустойчивости у животных, содержащихся в ОС. О том, что выявленное повышение стресс-реактивности ГГКС может способствовать повышению адаптационного потенциала организма, свидетельствуют результаты нашей предыдущей работы, демонстрирующие увеличение работоспособности у животных, содержащихся 1 месяц в точно таких же условиях ОС [24]. Полученные нами данные хорошо согласуются с представлением о том, что ОС – это «прививочный» стрессор, повышающий устойчивость организма к последующим стрессорным воздействиям [13]. Мы рассматриваем ОС как умеренный прекондиционирующий стрессор с большим адаптационным потенциалом. Полученные в настоящей работе данные хорошо согласуются с результатами наших предыдущих исследований, демонстрирующих адаптивные эффекты стрессорного прекондиционирования [42].

Условия содержания – СИ и ОС – по-разному влияли на ориентировочно-исследовательское поведение крыс. Нами было установлено, что в тесте «открытое поле» животные из группы СИ приблизительно поровну разделялись на уязвимых (демонстрирующих депрессивноподобные реакции) и устойчивых (по реакции на УС не отличающихся от контрольных). При этом все крысы после СИ демонстрировали повышенный уровень тревожности и сниженный уровень исследовательской активности в тесте ПКЛ. Крысы, содержащиеся в ОС, отличались от крыс, содержащихся в СИ, большей моторной и исследовательской активностью, а также меньшей тревожностью. Таким образом, СИ в раннем возрасте у крыс в нашем исследовании привела к развитию повышенной тревожности и реакциям избегания при помещении в новую обстановку, что согласуется с данными литературы [43, 44].

В литературе имеются и данные о развитии депрессивноподобных проявлений у крыс при СИ [45], которые оцениваются по изменению локомоторной активности в тесте «открытое поле», что тоже согласуется с нашими результатами. Однако нами впервые было выявлено, что популяция крыс после СИ не является однородной по развитию депрессивноподобных реакций, а подразделяется на две подгруппы – активную и пассивную. Полученные данные могут иметь прикладное значение. Изучение индивидуальных причин уязвимости к социальной изоляции может быть важным для профилактики таких состояний у некоторых групп людей.

Обогащение среды не оказывало влияния на уровень тревожности у крыс как в нашем эксперименте, так и в исследованиях других авторов [43, 44]. Такие крысы проводили достаточно много времени в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта или открытом поле, исследуя окружающую среду, что является полной противоположностью поведения крыс из СИ.

Данные литературы свидетельствуют о высокой степени коморбидности между депрессией и болью: боль является фактором риска для развития депрессии, а депрессия, в свою очередь, может усугублять хроническую боль [46, 47]. В связи с этим в наших экспериментах мы исследовали влияние условий содержания крыс и ulcerогенного стрессора не только на тревожность и депрессивноподобное поведение крыс, но и на их соматическую болевую чувствительность.

Полученные данные о влиянии ОС на соматическую болевую чувствительность находятся в соответствии с результатами наших предыдущих исследований и значительно расширяют их. Ранее мы показали, что содержание крыс в течение длительного времени (6 недель) как в условиях СИ, так и в условиях ОС само по себе вызывает уменьшение соматической болевой чувствительности, при этом крысы из ОС продемонстрировали наименьшую чувствительность к действию болевого раздражителя по сравнению с другими группами [24]. Согласно результатам настоящей работы, наименьшая чувствительность к действию болевого стимула у крыс из ОС сохраняется и после УС, что хорошо согласуется с данными литературы о том, что длительное содержание крыс в ОС может уменьшать хроническую боль, вызванную повреждением периферического нерва [48, 49], воспалением [10] или мигренью [50].

Несмотря на то, что СИ сама по себе, как и ОС, может вызывать снижение соматической болевой чувствительности [24, 51], в условиях дополнительного действия УС крысы, содержавшиеся в СИ, продемонстрировали усиление болевой чувствительности по сравнению с другими группами (рис. 7). Полученные данные, как и результаты других исследователей об усугублении хронической боли в условиях СИ [52], – стимул для поиска возможных способов коррекции негативных последствий СИ на болевую чувствительность. Результаты настоящей работы вместе с ранее полученными нами данными [24] свидетельствуют в пользу того, что «обогащение» среды может быть одним из возможных нефармакологических подходов к уменьшению боли в условиях патологии.

Новым фактом, который мы обнаружили в настоящей работе, является позитивная корреляция между уровнем кортикостерона в плазме крови и ЛП болевой реакции у крыс в группе СИ, что свидетельствует о возможности участия глюкокортикоидных гормонов в регуляции болевой чувствительности в данных условиях. На основании результатов настоящей работы, а также наших предыдущих исследований [31, 53] можно предположить, что одной из причин усиления болевой чувствительности крыс в СИ является снижение функциональной активности ГГКС, особенно ярко выраженное у крыс с пассивной стратегией поведения (рис. 8а). Следует отметить, что крысы с пассивной стратегией поведения, имеющие низкие болевые пороги и низкий уровень кортикостерона (рис. 8b, c), продемонстрировали также и депрессивноподобное поведение, что находится в соответствии с данными литературы о коморбидности между депрессией и болью [47].

Полученные данные – новые знания, значимо дополняющие результаты последних исследований, фокусирующихся на разработке нефармакологических подходов для уменьше-

ния боли, связанных с активацией естественных для организма защитных противоболевых механизмов [49, 54, 55], в том числе и вовлекающих глюкокортикоидные гормоны [56].

Оригинальность проведенного исследования и полученных результатов заключается в комплексном сравнительном подходе к решению вопроса о влиянии как СИ, так и ОС на функциональное состояние всего организма. Полученные результаты – новые аргументы в пользу ранее сделанного заключения [24] о том, что СИ крыс оказывает дезадаптивное влияние на их общее функциональное состояние, а ОС, напротив, приводит к адаптивным изменениям в организме. В целом результаты настоящей работы вносят вклад в существующие знания о негативном влиянии СИ и позитивном влиянии ОС на функционирование организма.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем благодарность сотрудникам лаборатории экспериментальной эндокринологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН Т.И. Колбасовой и Л.А. Афанасьевой за помощь в проведении экспериментов.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Л. П. Ф., Е. А. Р., Н. И. Я.), проведение эксперимента (Н. И. Я., М. Ю. З., О. Ю. М., С. Е. Ж., К. А. Б., О. П. К.), обработка данных (Н. И. Я., М. Ю. З., О. П. К.), написание и редактирование рукописи (Л. П. Ф., Е. А. Р., Н. И. Я.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета гранта НЦМУ Павловский центр «Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости» Министерства образования и науки Российской Федерации (№ 075–15–2022–303 от 21.04.2022 г.). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по содержанию и использованию животных Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол № 12/07 от 07.12.2020 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Holt-Lunstad J* (2021) A pandemic of social isolation? *World Psychiatry* 20: 55–56. <https://doi.org/10.1002/WPS.20839>
2. *Fang B, Yang S, Liu H, Zhang Y, Xu R, Chen G* (2019) Association between depression and subsequent peptic ulcer occurrence among older people living alone: A prospective study investigating the role of change in social engagement. *J Psychosom Res* 122: 94–103. <https://doi.org/10.1016/J.JPSYCHORES.2019.04.002>
3. *Mikocka-Walus A, Skvarc D, de Acosta MB, Evertsz FB, Bernstein CN, Burisch J, Ferreira N, Geary RB, Graff LA, Jedel S, Mokrowiecka A, Stengel A, Trindade IA, van Tilburg MAL, Knowles SR* (2022) Exploring the Relationship Between Self-Isolation and Distress Among People with Gastrointestinal Disorders During the COVID-19 Pandemic. *J Clin Psychol Med Settings* 29: 654–665. <https://doi.org/10.1007/S10880-021-09818-9>

4. *Xiong Y, Hong H, Liu C, Zhang YQ* (2023) Social isolation and the brain: effects and mechanisms. *Mol Psychiatry* 28: 191–201.
<https://doi.org/10.1038/S41380-022-01835-W>
5. *Zhang P, Yan J, Wei J, Li Y, Sun C* (2024) Disrupted synaptic homeostasis and partial occlusion of associative long-term potentiation in the human cortex during social isolation. *J Affect Disord* 344: 207–218.
<https://doi.org/10.1016/J.JAD.2023.10.080>
6. *Bannon S, Greenberg J, Mace RA, Locascio JJ, Vranceanu AM* (2021) The role of social isolation in physical and emotional outcomes among patients with chronic pain. *Gen Hosp Psychiatry* 69: 50–54.
<https://doi.org/10.1016/J.GENHOSPPSYCH.2021.01.009>
7. *Лобов ГИ* (2024) Социальная изоляция: связь с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. *Успехи физиол наук* 55(1): 31–46. [*Lobov GI* (2024) Social isolation relationship with cardiovascular diseases. *Uspekhi fiziol nauk* 55(1): 31–46. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0301179824010045>
8. *Golaszewski NM, Lacroix AZ, Godino JG, Allison MA, Manson JE, King JJ, Weitlauf JC, Bea JW, Garcia L, Kroenke CH, Saquib N, Cannell B, Nguyen S, Belletiere J* (2022) Evaluation of Social Isolation, Loneliness, and Cardiovascular Disease Among Older Women in the US. *JAMA Netw open* 5: e2146461.
<https://doi.org/10.1001/JAMANETWORKOPEN.2021.46461>
9. *Bu F, Steptoe A, Fancourt D* (2020) Who is lonely in lockdown? Cross-cohort analyses of predictors of loneliness before and during the COVID-19 pandemic. *Public Health* 186: 31–34.
<https://doi.org/10.1016/J.PUHE.2020.06.036>
10. *Guven EB, Pranic NM, Unal G* (2022) The differential effects of brief environmental enrichment following social isolation in rats. *Cogn Affect Behav Neurosci* 22: 818–832.
<https://doi.org/10.3758/S13415-022-00989-Y>
11. *Leemhuis E, Esposito RM, De Gennaro L, Pazzaglia M* (2021) Go Virtual to Get Real: Virtual Reality as a Resource for Spinal Cord Treatment. *Int J Environ Res Public Health* 18: 1–10.
<https://doi.org/10.3390/IJERPH18041819>
12. *Sihvonen AJ, Pitkäniemi A, Särkämö T, Soini S* (2022) Isn't There Room for Music in Chronic Pain Management? *J Pain* 23: 1143–1150.
<https://doi.org/10.1016/J.JPAIN.2022.01.003>
13. *Crofton EJ, Zhang Y, Green TA* (2015) Inoculation stress hypothesis of environmental enrichment. *Neurosci Biobehav Rev* 49: 19–31.
<https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2014.11.017>
14. *Brown RE* (2020) Donald O. Hebb and the organization of behavior: 17 years in the writing. *Mol Brain* 13.
<https://doi.org/10.1186/S13041-020-00567-8>
15. *Diamond MC, Krech D, Rosenzweig MR* (1964) The effects of an enriched environment of histology of rat cerebral cortex. *J Comp Neurol* 123: 111–119.
<https://doi.org/10.1002/CNE.901230110>
16. *Wang H, Xu X, Xu X, Gao J, Zhang T* (2020) Enriched Environment and Social Isolation Affect Cognition Ability via Altering Excitatory and Inhibitory Synaptic Density in Mice Hippocampus. *Neurochem Res* 45: 2417–2432.
<https://doi.org/10.1007/S11064-020-03102-2>
17. *Braun MD, Kisko TM, Witt SH, Rietschel M, Schwarting RKW, Wöhr M* (2019) Long-term environmental impact on object recognition, spatial memory and reversal learning capabilities in Cacna1c-haploinsufficient rats. *Hum Mol Genet* 28: 4113–4131.
<https://doi.org/10.1093/HMG/DDZ235>
18. *Popa N, Boyer F, Jaouen F, Belzeaux R, Gascon E* (2020) Social Isolation and Enrichment Induce Unique miRNA Signatures in the Prefrontal Cortex and Behavioral Changes in Mice. *Science* 23(12): 101790.
<https://doi.org/10.1016/J.ISCI.2020.101790>
19. *Lopez MF, Laber K* (2015) Impact of social isolation and enriched environment during adolescence on voluntary ethanol intake and anxiety in C57BL/6J mice. *Physiol Behav* 148: 151–156.
<https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2014.11.012>
20. *Vannan A, Powell GL, Scott SN, Pagni BA, Neisewander JL* (2018) Animal Models of the Impact of Social Stress on Cocaine Use Disorders. *Int Rev Neurobiol* 140: 131–169.
<https://doi.org/10.1016/BS.IRN.2018.07.005>
21. *Zhao X, Mohammed R, Tran H, Erickson M, Kentner AC* (2021) Poly (I: C)-induced maternal immune activation modifies ventral hippocampal regulation of stress reactivity: prevention by environmental enrichment. *Brain Behav Immun* 95: 203–215.
<https://doi.org/10.1016/J.BBI.2021.03.018>

22. *Guarnieri LO, Pereira-Caixeta AR, Medeiros DC, Aquino NSS, Szawka RE, Mendes E M A M, Moraes MFD, Pereira GS* (2020) Pro-neurogenic effect of fluoxetine in the olfactory bulb is concomitant to improvements in social memory and depressive-like behavior of socially isolated mice. *Transl Psychiatry* 10(1): 33.
<https://doi.org/10.1038/S41398-020-0701-5>
23. *Крупина НА, Ширенова СД* (2023) Нарушения когнитивных функций при длительной социальной изоляции: результаты исследований на людях и экспериментов на животных. *Успехи физиол наук* 54(3): 18–35. [*Krupina NA, Shirenova SD* (2023) Cognitive impairment under prolonged social isolation: insights from human studies and animal experiments. *Uspekhi fiziol nauk* 54(3): 18–35. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0301179823040045>
24. *Filaretova LP, Komkova OP, Morozova OY, Punina PV, Yarushkina NI* (2024) Environmental enrichment reverses proulcerogenic action of social isolation on the gastric mucosa and positively influences pain sensitivity and work capacity. *Inflammopharmacology* 32: 909–915.
<https://doi.org/10.1007/S10787-024-01451-W>
25. *Солнушкин СД, Чихман ВН* (2018) Компьютерная обработка биологических изображений. *Биомед радиоэлектрон* 2: 35–40. [*Solnushkin SD, Chikhman VN* (2018) Experience of biological image processing. *Biomed Radioelectron* 2: 35–40. (In Russ)].
26. *Jahng JW, Yoo SB, Ryu V, Lee JH* (2012) Hyperphagia and depression-like behavior by adolescence social isolation in female rats. *Int J Dev Neurosci* 30: 47–53.
<https://doi.org/10.1016/J.IJDEVNEU.2011.10.001>
27. *Dulabi AN, Shakerin Z, Mehranfard N, Ghasemi M* (2020) Vitamin C protects against chronic social isolation stress-induced weight gain and depressive-like behavior in adult male rats. *Endocr Regul* 54: 266–274.
<https://doi.org/10.2478/ENR-2020-0030>
28. *Belardo C, Alessio N, Pagano M, De Dominicis E, Infantino R, Perrone M, Iannotta M, Galderisi U, Rinaldi B, Scuteri D, Bagetta G, Palazzo E, Maione S, Luongo L* (2022) PEA-OXA ameliorates allodynia, neuropsychiatric and adipose tissue remodeling induced by social isolation. *Neuropharmacology* 208: 108978.
<https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2022.108978>
29. *Filaretova LP, Morozova OY, Yarushkina NI* (2021) Peripheral corticotropin-releasing hormone may protect the gastric musosa against indometacin-induced injury through involvement of glucocorticoids. *J Physiol Pharmacol* 72: 1–10.
<https://doi.org/10.26402/JPP.2021.5.06>
30. *Filaretova L, Komkova O, Sudalina M, Yarushkina N* (2021) Non-Invasive Remote Ischemic Preconditioning May Protect the Gastric Mucosa Against Ischemia-Reperfusion-Induced Injury Through Involvement of Glucocorticoids. *Front Pharmacol* 12: 682643.
<https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.682643>
31. *Filaretova L, Podvigina T, Yarushkina N* (2020) Physiological and pharmacological effects of glucocorticoids on the gastrointestinal tract. *Curr Pharm Des* 26(25): 2962–2970.
<https://doi.org/10.2174/1381612826666200521142746>
32. *Yarushkina NI, Komkova OP, Filaretova LP* (2020) Influence of forced treadmill and voluntary wheel running on the sensitivity of gastric mucosa to ulcerogenic stimuli in male rats. *J Physiol Pharmacol* 71: 1–13.
<https://doi.org/10.26402/JPP.2020.6.04>
33. *Filaretova LP, Filaretov AA, Makara GB* (1998) Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats. *Am J Physiol* 274: G1024-G1030.
34. *Filaretova L, Bagaeva T, Makara GB* (2002) Aggravation of nonsteroidal antiinflammatory drug gastropathy by glucocorticoid deficiency or blockade of glucocorticoid receptors in rats. *Life Sci* 71: 2457–2468.
35. *Filaretova L* (2006) The hypothalamic-pituitary-adrenocortical system: Hormonal brain-gut interaction and gastroprotection. *Auton Neurosci* 125: 86–93.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2006.01.005>
36. *Подвигина ТТ, Комкова ОП, Ветровой ОВ, Ярушкина НИ, Филаретова ЛП* (2023) Сравнение влияния содержания крыс в горах и на равнине на развитие стрептозоточин-индуцированного диабета и язвообразование в желудке. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 109(10): 1457–1475. [*Podvigina TT, Komkova OP, Vetrovov OV, Yaruskina NI, Filaretova LP* (2023) Comparison of the Effect of Keeping Rats in the Mountains and on the Plain on the Development of Streptozotocin-Induced Diabetes and Gastric Ulceration. *Rus Physiol J* 109(10): 1457–1475. (In Russ)].

37. *Yarushkina NI, Podvigina TT, Komkova OP, Morozova OYu, Punina PV, Filaretova LP* (2023) Comparative Analysis of the Effects of Insulin and Metformin on the Ulcerogenic Action of Indomethacin in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. *J Evol Biochem Physiol* 59(6): 2399–2412.
<https://doi.org/10.1134/s0022093023060406>
38. *Filaretova LP, Bagaeva TR, Morozova OY, Zelena D* (2014) A wider view on gastric erosion: detailed evaluation of complex somatic and behavioral changes in rats treated with indomethacin at gastric ulcerogenic dose. *Endocr Regul* 48: 163–172.
https://doi.org/10.4149/ENDO_2014_04_163
39. *Gamallo A, Villanua A, Trancho G, Fraile A* (1986) Stress adaptation and adrenal activity in isolated and crowded rats. *Physiol Behav* 36: 217–221.
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90006-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90006-5)
40. *Hofford RS, Prendergast MA, Bardo MT* (2018) Modified single prolonged stress reduces cocaine self-administration during acquisition regardless of rearing environment. *Behav Brain Res* 338: 143–152.
<https://doi.org/10.1016/J.BBR.2017.10.023>
41. *Рыбникова ЕА, Миронова ВИ, Пивина СГ, Ордян НЭ, Тюлькова ЕИ, Самойлов МО* (2008) Гормональные механизмы нейропротективных эффектов гипоксического preconditionирования у крыс. Докл РАН 421(5): 713–715. [*Rybnikova EA, Mironova VI, Pivina SG, Ordyan NE, Tulkova EI, Samoilov MO* (2008) Hormonal mechanisms of neuroprotective effects of the mild hypoxic preconditioning in rats. *Dokl Biol Sci* 421(5): 239–240. (In Russ)].
<https://doi.org/10.1134/S0012496608040054>
42. *Filaretova L* (2017) Gastroprotective Effect of Stress Preconditioning: Involvement of Glucocorticoids. *Curr Pharm Des* 23: 3923–3927.
<https://doi.org/10.2174/1381612823666170215145125>
43. *Grigoryan GA, Pavlova IV, Zaichenko MI* (2022) Effects of Social Isolation on the Development of Anxiety and Depression-Like Behavior in Model Experiments in Animals. *Neurosci Behav Physiol* 52: 722–738.
<https://doi.org/10.1007/S11055-022-01297-1>
44. *Pritchard LM, Van Kempen TA, Zimmerberg B* (2013) Behavioral effects of repeated handling differ in rats reared in social isolation and environmental enrichment. *Neurosci Lett* 536: 47–51.
<https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2012.12.048>
45. *Brenes JC, Fornaguera J, Sequeira-Cordero A* (2020) Environmental Enrichment and Physical Exercise Attenuate the Depressive-Like Effects Induced by Social Isolation Stress in Rats. *Front Pharmacol* 11: 804.
<https://doi.org/10.3389/FPHAR.2020.00804>
46. *Silveira J, Oliveira D, Martins A, Costa L, Neto F, Ferreira-Gomes J, Vaz C* (2024) The association between anxiety and depression symptoms and clinical and pain characteristics in patients with hip and knee osteoarthritis. *ARP Rheumatol*.
47. *Bravo L, Llorca-Torralba M, Suárez-Pereira I, Berrocoso E* (2020) Pain in neuropsychiatry: Insights from animal models. *Neurosci Biobehav Rev* 115: 96–115.
<https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2020.04.029>
48. *Falkowska M, Ntamati NR, Nevian NE, Nevian T, Acuña MA* (2023) Environmental enrichment promotes resilience to neuropathic pain-induced depression and correlates with decreased excitability of the anterior cingulate cortex. *Front Behav Neurosci* 17: 1139205.
<https://doi.org/10.3389/FNBEH.2023.1139205>
49. *Wang X ming, Zhang G fen, Jia M, Xie Z min, Yang J jun, Shen J chun, Zhou Z qiang* (2019) Environmental enrichment improves pain sensitivity, depression-like phenotype, and memory deficit in mice with neuropathic pain: role of NPAS4. *Psychopharmacology (Berl)* 236: 1999–2014.
<https://doi.org/10.1007/S00213-019-5187-6>
50. *Wang L, Liu X, Zhu C, Wu S, Li Z, Jing L, Zhang Z, Jing Y, Wang Y* (2024) Environmental enrichment alleviates hyperalgesia by modulating central sensitization in a nitroglycerin-induced chronic migraine model of mice. *J Headache Pain* 25(1): 74.
<https://doi.org/10.1186/S10194-024-01779-2>
51. *Horiguchi N, Ago Y, Hasebe S, Higashino K, Asada K, Kita Y, Takuma K, Matsuda T* (2013) Isolation rearing reduces mechanical allodynia in a mouse model of chronic inflammatory pain. *Pharmacol Biochem Behav* 113: 46–52.
<https://doi.org/10.1016/J.PBB.2013.10.017>
52. *Bravo L, Alba-Delgado C, Torres-Sanchez S, Mico JA, Neto FL, Berrocoso E* (2013) Social stress exacerbates the aversion to painful experiences in rats exposed to chronic pain: the role of the locus coeruleus. *Pain* 154: 2014–2023.
<https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2013.06.021>

53. *Filaretov AA, Bogdanov AI, Yarushkina NI* (1996) Stress-induced analgesia. The role of hormones produced by the hypophyseal-adrenocortical system. *Neurosci Behav Physiol* 26(6): 572–578. <https://doi.org/10.1007/BF02359502>
54. *Metcalf CS, Huntsman M, Garcia G, Kochanski AK, Chikinda M, Watanabe E, Underwood T, Vanegas F, Smith MD, White HS, Bulaj G* (2019) Music-Enhanced Analgesia and Antiseizure Activities in Animal Models of Pain and Epilepsy: Toward Preclinical Studies Supporting Development of Digital Therapeutics and Their Combinations With Pharmaceutical Drugs. *Front Neurol* 10: 1–16. <https://doi.org/10.3389/FNEUR.2019.00277>
55. *Kimura LF, Mattaraia VG de M, Pico G* (2019) Distinct environmental enrichment protocols reduce anxiety but differentially modulate pain sensitivity in rats. *Behav Brain Res* 364: 442–446. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2017.11.012>
56. *Orock A, Johnson AC, Mohammadi E, Greenwood-Van Meerveld B* (2023) Environmental enrichment reverses stress-induced changes in the brain-gut axis to ameliorate chronic visceral and somatic hypersensitivity. *Neurobiol Stress* 28: 100590. <https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2023.100590>

The Influence of Social Isolation and Enriched Environment on the Activity of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical (HPA) Axis, Pain Sensitivity, and Behavior in Rats after Exposure to an Ulcerogenic Stressor

© 2024 N. I. Yarushkina^{a, *}, M. Yu. Zenko^a, O. Yu. Morozova^a, O. P. Komkova^a, K. A. Baranova^a, S. E. Zhuikova^a, E. A. Rybnikova^a, and L. P. Filaretova^a

^a*Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg, Russia*

^{*}*e-mail: yarushkinani@infran.ru*

The results we obtained earlier indicate the potential for corrective effects on the negative consequences of social isolation on the functioning of the body through an enriched environment. The aim of the present study was to investigate the influence of housing conditions for rats – standard conditions, social isolation, and an enriched environment – on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis, focusing on HPA axis stress reactivity, pain sensitivity, and rat behavior following exposure to an ulcerogenic stressor. The experiments were conducted on male Sprague-Dawley rats. Thirty-day-old rats, after being weaned from their mothers, were placed in different housing conditions for four weeks: standard environment (SE), isolation (SI), or an enriched environment (EE). After four weeks, rats from each group were exposed to an ulcerogenic stressor (US): 3 hours of cold immobilization (10 °C). Starting the day after US exposure, for one week, all groups of rats were sequentially assessed for somatic pain sensitivity (in the “hot plate” test), behavior (in the “open field” and “elevated plus maze” tests), and HPA stress reactivity (based on corticosterone levels in response to mild procedural stress). According to the results, SI conditions in our experimental setup led to a faster increase in body weight with age, higher anxiety levels, depressive-like reactions in half of the animals studied, and increased sensitivity to painful stimuli. At the same time, rats kept in the EE showed higher HPA axis stress reactivity, greater motor and exploratory activity, lower anxiety, and lower sensitivity to painful stimuli. The obtained results provide new evidence supporting our previous conclusion that SI exerts maladaptive effects on the overall functional state of the rats' bodies, while EE, on the contrary, leads to adaptive changes in the body. This study highlights the importance of an integrative approach when studying the effects of SI and EE on the body.

Keywords: social isolation, enriched environment, stress, glucocorticoid hormones, stress reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system, gastric erosions, behavior, pain sensitivity, rats