

СОЧЕТАНИЕ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ В КРИТИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ  
РАЗВИТИЯ ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ К СТРЕССУ  
ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ БОЛИ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС

© 2020 г. И. П. Буткевич<sup>1, 2, \*</sup>, В. А. Михайленко<sup>1</sup>, Е. А. Вершинина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова, РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: irinabutkevich@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.11.2019 г.

После доработки 24.12.2019 г.

Принята к публикации 25.12.2019 г.

Исследовали долговременное влияние сочетания стресса в пренатальный и препубертатный периоды развития на показатели тонической воспалительной боли в формалиновом тесте и уровня выраженности депрессивноподобного поведения, а также на стрессовую реактивность гормонального ответа у взрослых крыс. Кроме того, у крыс обоего пола было оценено влияние ингибитора обратного захвата серотонина (5-НТ) флуоксетина и агониста 5-НТ1А-рецептора буспилона, хронически вводимых их стрессированным матерям в период беременности, на исследованные типы адаптивного поведения, нарушенного пренатальным стрессом. Обнаружено, что у крыс обоего пола пренатальный стресс усилил болевой ответ, организованный на спинальном и супраспинальном уровнях центральной нервной системы, флуоксетин и буспирон нормализовали их. Стресс в препубертатный период развития нивелировал у взрослых крыс влияние пренатального стресса на воспалительный болевой ответ, интегрированный на супраспинальном уровне; в этих условиях флуоксетин и буспирон не действовали в отличие от их антиноцицептивного влияния на болевой ответ, интегрированный на спинальном уровне. Стресс в препубертатном возрасте нивелировал половые различия, обнаруженные при депрессивно-подобном поведении у пренатально не стрессированных и пренатально стрессированных с введением физиологического раствора крыс. У контрольных взрослых самок и взрослых самок с пренатальными воздействиями стресс в препубертатном возрасте повысил уровень кортикостерона в плазме крови после принудительного плавания по сравнению с базальным уровнем гормона, но достоверных различий в уровне стрессовой реактивности гормонального ответа после принудительного плавания обнаружено не было. Таким образом, идентифицированы условия стрессовых воздействий, которые повышают устойчивость к стрессу у взрослых крыс. Стресс в критические периоды развития формирует фенотип с повышенной стрессоустойчивостью к воспалительному болевому воздействию, что обнаружено в ответе, организованном на супраспинальном уровне у взрослых особей.

*Ключевые слова:* стресс в пренатальный и препубертатный периоды, взрослые самцы и самки крыс, воспалительная боль, депрессивное поведение, кортикостерон

DOI: 10.31857/S0869813920030024

Стрессовые события в ранние периоды индивидуального развития нарушают функциональную активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систе-

мы (ГГНС), морфофункциональное развитие головного мозга и, как следствие, изменяют формирование поведения [1, 2]. Подтверждением этому являются многочисленные данные, полученные как на человеке [3, 4], так и в экспериментах на животных [1, 2] при исследовании краткосрочных и долговременных влияний стресса в перинатальный период развития на психоэмоциональное поведение. Стресс в препубертатный период развития, характерной особенностью которого является высокая пластичность, обуславливающая повышенную чувствительность к внешним и внутренним раздражителям [5], рассматривают, наряду со стрессом в перинатальном возрасте, как фактор риска для развития тревожных и депрессивных состояний и отклонений в функциональной активности ГГНС [6–8]. Уделяется внимание половым различиям у взрослых животных во влиянии стресса в препубертатном возрасте [9] на поведение. При исследовании на животных в качестве стресса наиболее часто применяют пренатальный стресс (стресс матери во время гестации), стресс изоляции новорожденных от матери, хронический умеренный стресс и неблагоприятные условия жизни [7, 10, 11]. Влияние стресса в раннем возрасте изучают преимущественно на стрессоустойчивость к эмоциональному и социальному типам стресса [11]. Доминирующее число работ было посвящено негативным последствиям стресса в критические периоды развития, к которым относятся пренатальный и препубертатный периоды [8, 9, 12]. Одной из самых важных мишеней пренатального стресса является 5-НТ1А-рецептор [13]. Ранее нами было показано, что повторные инъекции ингибитора обратного захвата серотонина (5-НТ) флуоксетина и агониста 5-НТ1А-рецептора буспилона беременным самкам крыс, стрессированным в период беременности, нормализовали адаптивное поведение, нарушенное пренатальным стрессом, у молодого потомства [14]. Оба препарата действуют через 5-НТ1А-рецептор, вовлеченный в психоэмоциональное поведение и ноцицепцию и влияют на уровень 5-НТ в головном мозге [15]. Серотонин в пренатальный период онтогенеза выполняет роль развивающего сигнала и ответственен, при тесном взаимоотношении с ГГНС, за высокую нейропластичность, которая позволяет клеткам мозга в ответ на изменения окружающей среды корректировать развитие центральной нервной системы и адаптироваться к ним [16]. Перечисленные факты привлекли наше внимание к серотонинергической системе при исследовании влияния сочетания стрессовых воздействий в пре- и постнатальном развитии на адаптивное поведение крыс в разные возрастные периоды.

В последние годы все чаще появляются данные о возможном благоприятном влиянии повторного стресса во время критических периодов развития на чувствительность к стрессу во взрослом возрасте [17, 18], притом большое внимание обращается на половые различия. Неоднородность результатов, полученных в разных экспериментальных условиях, включая тип и последовательность стрессовых воздействий, их интенсивность и длительность, а также пол животных и возраст в период воздействия стрессом и во время оценки его последствий, сдерживает исследование механизмов этого феномена. В настоящее время актуальным является идентификация разнообразных стрессовых условий, сочетание которых в критические периоды развития повышает адаптацию к будущим стрессам, а также проведение исследований на особях обоего пола, так как имеющиеся данные получены преимущественно на самцах [11]. На основании данных литературы, включающих и различную индивидуальную особенность к развитию стрессоустойчивости к одинаковым стрессовым условиям, была выдвинута гипотеза об уязвимости и устойчивости индивидуумов, подвергнутых стрессовым событиям в критические периоды жизни, к стрессу в последующем онтогенезе [17, 19, 20]. Основное внимание в этой гипотезе уделяется условиям, в которых осуществляется стресс на ранних этапах жизни и стресс во взрослом состоянии. При совпадении этих условий стресса можно ожидать положительный результат – устойчивость к стрессу, в противном

случае организм оказывается уязвимым к чрезмерным нагрузкам, что приводит к развитию тревожно-депрессивных проявлений и различных заболеваний.

Ранее нами было обнаружено, что стресс в перинатальном периоде повышает способность противостоять стрессу у самцов крыс в препубертатном возрасте [21]. В упомянутой работе мы впервые использовали сочетание стресса самки крысы в период беременности, являющегося фактором риска для развития депрессии у потомства, и стресса воспалительной боли у новорожденных, встречающегося в неонатальной клинике. Оказалось, что у взрослых самцов, испытавших подобные события в перинатальном возрасте, интенсивность тонического болевого ответа была достоверно ниже, чем у контрольных самцов. Поведенческие исследования на животных определяют направление для изучения механизмов этого парадоксального явления на молекулярном уровне [22].

Цель настоящей работы состояла в исследовании влияния сочетания пренатального стресса и стресса в препубертатном возрасте на интенсивность тонического воспалительного болевого ответа, степень выраженности депрессивноподобного поведения, а также на стрессовую реактивность гормонального ответа у пренатально стрессированных взрослых крыс. Ранее мы показали, что стресс в перинатальном возрасте может изменить активность применяемых антидепрессантов [21], поэтому в настоящей работе исследовали еще и влияние ингибитора обратного захвата серотонина (5-НТ) флуоксетина и агониста 5-НТ1А-рецептора бупирона, которые вводились стрессированным матерям в период беременности, на изучаемые типы адаптивного поведения, нарушенного пренатальным стрессом, у потомства обоего пола.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования было потомство крыс линии Вистар, полученных из биокolleкции Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург) и доставленных в виварий лаборатории. Все процедуры работы с животными проводились в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями руководства ARRIVE [23]. Протоколы опытов утверждены комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Все животные содержались в стандартных условиях (свободный доступ к воде и пище, 12-часовой день, свет с 8.00). Самки до беременности ( $n = 50$ ) и самцы ( $n = 30$ ) были помещены в стандартные клетки (в каждой клетке 5 самок и 3 самца). Беременность определяли по мазку из влагалища, наличие сперматозоидов в мазке обозначали как нулевой день беременности. С 9-х суток беременности до родов самки получали ежедневную внутривбрюшинную инъекцию флуоксетина (10 мг/кг, Sigma), бупирона (3.5 мг/кг, Sigma) или физиологического раствора, контрольные самки, подвергнутые только взятию в руки, оставались без воздействий. Ранее нами было показано, что пренатальный стресс вызывал достоверно более сильное увеличение воспалительного болевого ответа в формалиновом тесте ( $p < 0.05$ ) и депрессивноподобного поведения в тесте принудительного плавания ( $p < 0.001$ ) у взрослых крыс по сравнению с болевым ответом и ответом депрессивно-подобного поведения у пренатально не стрессированных взрослых крыс, рожденных самками с введением физиологического раствора в период беременности [24], поэтому в качестве контроля в настоящей работе использовали пренатально не стрессированных крыс без введения физиологического раствора. Дозы препаратов были апробированы нами ранее [24] и соответствовали данным, имеющимся в литературе [25]. С 15-х суток беременности до родов самок с введением препаратов или физиологического раствора утром и вечером в течение 60 мин при ярком свете подвергали иммобилизационному стрессу, помещая их в цилиндры, резко ограничивающие движение

крыс. Стресс беременной самки используют в качестве модели пренатального стресса для потомства: стресс в последнюю неделю беременности самки, вызывая у плода чрезмерное повышение уровня кортикостерона, приводит в дальнейшем к развитию депрессивноподобного поведения у потомства [7]. Введение стрессированным беременным крысам антидепрессанта флуоксетина или анксиолитика буспирона нивелирует негативное влияние стресса [21]. Рождение потомства проверяли каждые четыре часа (с 8 до 20 ч). На следующие сутки после рождения в каждом помете оставляли по 4 разнополых особи. Крысята находились в гнезде с матерью до 30-дневного возраста. Затем разнополых животных рассаживали в разные клетки. В исследование были включены следующие группы крыс: пренатально не стрессированные (контрольные), пренатально стрессированные с введением физиологического раствора, пренатально стрессированные с введением флуоксетина, пренатально стрессированные с введением буспирона.

На крысах обоего пола с перечисленными выше пренатальными воздействиями и на контрольных животных было проведено две серии экспериментов. В серии I (самки  $n = 38$ , самцы  $n = 38$ ) при достижении крысами 90-дневного возраста у них оценивали интенсивность воспалительного болевого ответа в формалиновом тесте (подкожная инъекция 2.5%-ного раствора формалина, 50 мкл в подошву левой задней конечности) и через трое суток – уровень выраженности депрессивноподобного поведения в тесте принудительного плавания. В серии II (самки  $n = 44$ , самцы  $n = 40$ ), животные в возрасте 25 дней были подвергнуты стрессу воспалительной боли (подкожная инъекция 10 мкл 2.5%-ного раствора формалина в подошву левой задней конечности) и через три дня – стрессу принудительного плавания. При достижении 90-дневного возраста у этих животных исследовали адаптивное поведение, как и у крыс серии I.

В формалиновом тесте, который широко используется для оценки антиноцицептивного действия препаратов на интенсивность воспалительной боли, регистрировали в течение 60 мин число сгибаний + встряхиваний (реакция, интегрированная на спинальном уровне) и продолжительность реакции вылизывания (супраспинальный уровень) в ответ на подкожную инъекцию формалина в подошву левой задней конечности в тоническую фазу двухфазного поведенческого ответа [26]. В тесте принудительного плавания каждую крысу на 5 мин помещали в цилиндр с водой (диаметр 25 см, высота 60 см, температура воды 24–25°C) и регистрировали время, проведенное крысой в неподвижном состоянии (время иммобильности – показатель депрессивноподобного поведения). Через 30 мин после завершения теста принудительного плавания у самок крыс серии II декапитацией собирали кровь. Самки в день эксперимента находились в стадии диэструса. Для определения базального уровня кортикостерона были использованы самки ( $n = 43$ ), подвергнутые всем воздействиям, как и самки серии II, кровь у них собирали в 9 ч утра. Кровь центрифугировали, плазму крови хранили при температуре –20°C. Содержание кортикостерона в плазме крови определяли с помощью иммуноферментного анализа с использованием реактивов фирмы (Xema-Medica Co Cat No: K210R).

Анализ данных проводился с использованием трехфакторной модели дисперсионного анализа ANOVA. Факторы: серия (I, II), пол (самцы, самки) и воздействие (пренатально не стрессированные/физиологический раствор + пренатальный стресс/флуоксетин+пренатальный стресс/буспирон + пренатальный стресс) с последующими множественными апостериорными сравнениями по Бонферрони. В качестве зависимых переменных выступали: сгибание + встряхивание, продолжительность вылизывания, время иммобильности. Сила связи фактора и зависимой переменной измерялась при помощи величины  $\eta^2$  (Partial Eta Squared). Для кортикостерона применяли дисперсионный двухфакторный анализ ANOVA. Факторы: серия (базальный, серия II), и воздействие (пренатально не стрессирован-

ные/физиологический раствор + пренатальный стресс/флуоксетин + пренатальный стресс/буспирон + пренатальный стресс) с последующими сравнениями по Бонферрони. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка. Принятый уровень значимости составлял 5%. При анализе данных использовался программный комплекс SPSS Inc.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В *формалиновом тесте* для сгибания + встряхивания во второй тонической фазе ответа получено значимое влияние серии  $F(1,144) = 42.238$ ,  $***p < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.222$  и влияние воздействия  $F(3,144) = 18.384$ ,  $***p < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.277$ . Для продолжительности вылизывания во второй тонической фазе ответа получено значимое влияние серии  $F(1,444) = 148.796$ ,  $***p < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.508$ , воздействия  $F(3,144) = 8.227$ ,  $p < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.146$ , пола  $F(1,14) = 5.481$ ,  $*p = 0.021$ ,  $\eta^2 = 0.037$ , также значимо взаимодействие серии и воздействия  $F(3,144) = 3.317$ ,  $*p = 0.022$ ,  $\eta^2 = 0.065$ .

Тест Бонферрони обнаружил, что в серии I пренатальный стресс увеличил болевой ответ в показателях как спинального, так и супраспинального уровней у взрослых самцов ( $p < 0.01$  в обоих случаях) (рис. 1A, C), у самок – на супраспинальном уровне ( $p = 0.004$ ) (рис. 1D) по сравнению с идентичными показателями болевого воспалительного ответа у пренатально не стрессированных взрослых крыс. Флуоксетин уменьшил показатели болевого ответа у самцов на спинальном ( $p = 0.042$ ) и супраспинальном ( $p = 0.021$ ) уровнях (рис. 1A, C), а у самок – только на супраспинальном уровне ( $p = 0.034$ ) (рис. 1D) по сравнению с показателями ответа у пренатально стрессированных крыс. Буспирон уменьшил показатели болевого ответа у самцов на спинальном ( $p = 0.043$ ) и супраспинальном уровнях ( $p = 0.030$ ) (рис. 1C), а у самок – на спинальном ( $p = 0.021$ ) и супраспинальном уровнях ( $p = 0.018$ ) (рис. 1B, D) по сравнению с показателями ответа у пренатально стрессированных крыс. Таким образом, в серии I повторное введение флуоксетина и буспирона беременным самкам крыс вызывало у взрослого потомства снижение усиленного пренатальным стрессом воспалительного болевого ответа, организованного на спинальном и супраспинальном уровнях.

Тест Бонферрони обнаружил, что в серии II пренатальный стресс увеличил число сгибаний + встряхиваний у самцов ( $p = 0.011$ ) и на уровне тенденции у самок ( $p = 0.063$ ) (рис. 1A, B), но не изменил продолжительность вылизывания у крыс обоего пола (рис. 1C, D). Флуоксетин и буспирон уменьшили влияние пренатального стресса на болевой ответ в показателях спинального уровня у самцов ( $p = 0.020$ ,  $p = 0.002$ ) (рис. 1A) и самок ( $p = 0.006$ ,  $p = 0.002$ ) (рис. 1B) по сравнению с пренатально стрессированными крысами. Тест Бонферрони обнаружил следующие различия между сериями I и II в тоническом болевом ответе. Более высокие значения ответа были обнаружены в серии II в показателях спинального уровня у пренатально не стрессированных и пренатально стрессированных самцов ( $p = 0.009$ ,  $p = 0.025$ ) (рис. 1A) и пренатально стрессированных самок ( $p = 0.007$ ) (рис. 1B). Важно, что в показателях супраспинального уровня более высокие показатели были обнаружены в серии I у пренатально не стрессированных самцов ( $p = 0.004$ ) (рис. 1C) и самок ( $p = 0.005$ ) (рис. 1D) и пренатально стрессированных самцов и самок ( $p < 0.001$  в обоих случаях). Кроме того, в серии II по сравнению с серией I величина болевого ответа на супраспинальном уровне была меньше у пренатально стрессированных самцов с флуоксетином и буспироном ( $p < 0.001$  и  $p = 0.002$ ) (рис. 1C) и самок ( $p < 0.001$  в обоих случаях) (рис. 1D), а на спинальном уровне – у пренатально стрессированных самцов с флуоксетином ( $p = 0.003$ ) (рис. 1A). Таким образом, в серии II влияние сочетания стрессоров неодинаково проявилось в болевом ответе, организованном на

спинальном и супраспинальном уровнях. Так, число сгибаний + встряхиваний у пренатально стрессированных крыс было увеличено, флуоксетин и бупирон нормализовали этот показатель. Продолжительность вылизывания, показатель болевого ответа, организованного на супраспинальном уровне, снизилась более чем на 50% у пренатально не стрессированных крыс и крыс с пренатальными воздействиями, притом различий в ответе между группами крыс не было обнаружено.

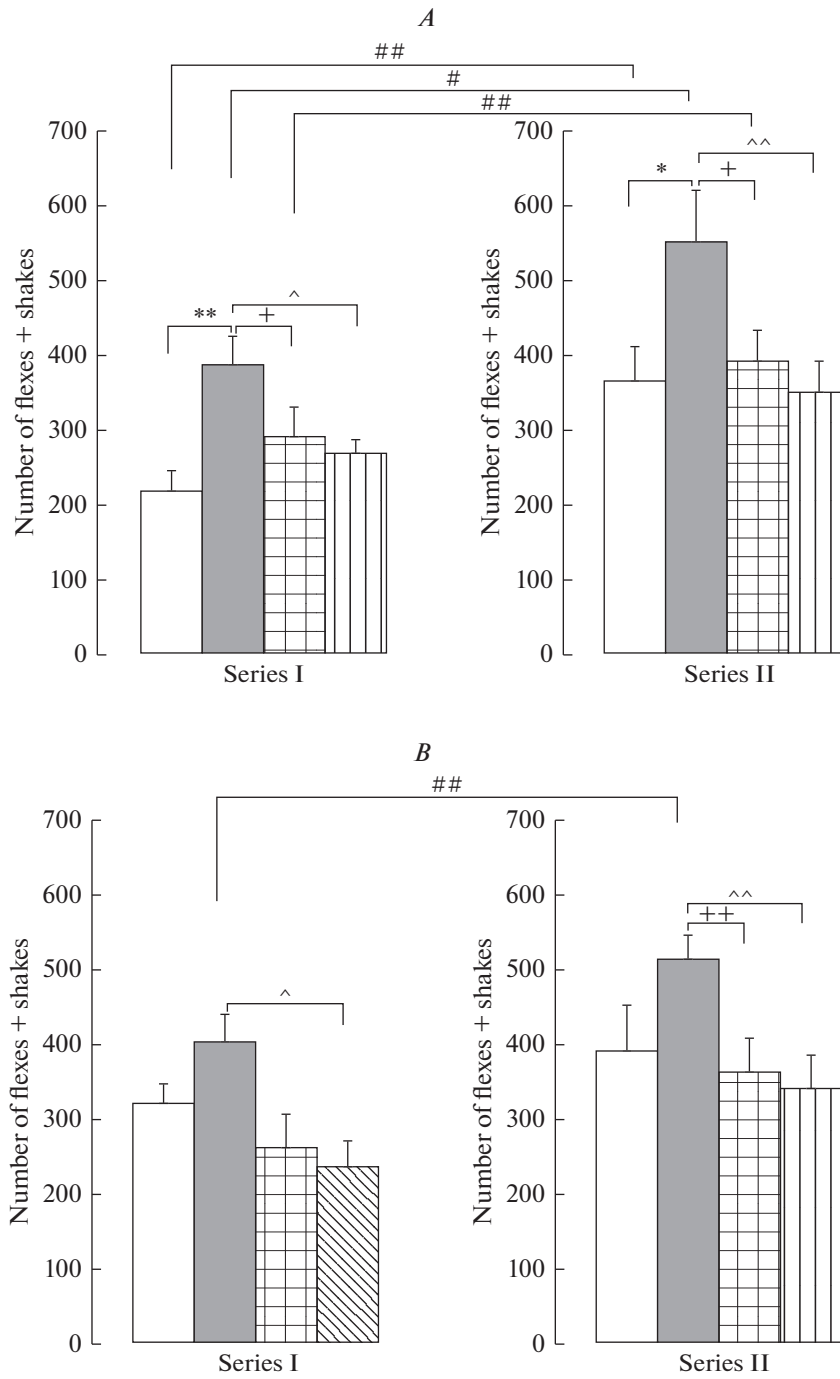
В тесте принудительного плавания для времени иммобильности получено значимое влияние воздействия  $F(3,144) = 51.853$ ,  $***p < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.519$ , пола  $F(1,144) = 7.429$ ,  $**p = 0.007$ ,  $\eta^2 = 0.049$ , значимо взаимодействие серии и пола  $F(1,144) = 9.706$ ,  $**p = 0.002$ ,  $\eta^2 = 0.063$  и в тенденции взаимодействие серии, пола и воздействия  $F(3,144) = 2.239$ ,  $p = 0.086$ ,  $\eta^2 = 0.045$ . Тест Бонферрони обнаружил, что в сериях I и II пренатальный стресс увеличил время иммобильности у самцов ( $p = 0.002$ ,  $p < 0.001$ ) (рис. 2A) и у самок ( $p = 0.004$ ,  $p < 0.001$ ) (рис. 2B) по сравнению с этим показателем у пренатально не стрессированных животных. В серии I флуоксетин и бупирон уменьшили время иммобильности у самцов ( $p < 0.001$  в обоих случаях) (рис. 2A) и самок ( $p = 0.003$ ,  $p = 0.001$ ) (рис. 2B) по сравнению с этим показателем у пренатально стрессированных крыс. В серии II флуоксетин уменьшил время иммобильности у самцов ( $p = 0.02$ ) и самок ( $p = 0.006$ ) (рис. 2A, B), бупирон уменьшил этот показатель у крыс обоего пола ( $p = 0.002$  в обоих случаях) (рис. 2A, B). Обнаружено достоверное различие между сериями во времени иммобильности у пренатально стрессированных самок ( $p < 0.001$ ), с более высоким показателем депрессии в серии II (рис. 2B). Половые различия обнаружены только в серии I у пренатально не стрессированных ( $p < 0.01$ ) и пренатально стрессированных ( $p < 0.001$ ) крыс с более высокими показателями у

**Рис. 1.** Влияние пренатальных воздействий (пренатальное введение флуоксетина, бупирона, пренатальный стресс) (Серия I) и их сочетания со стрессом в препубертатный период развития (Серия II) на воспалительный болевой ответ в формалиновом тесте у взрослых самцов (A, B) и самок (C, D) крыс.

По вертикали — число сгибаний + встряхиваний (спинальный уровень) (A, B) и продолжительность реакции вылизывания (супраспинальный уровень) (с) (C, D). Белые столбики — пренатально не стрессированные (контроль), серые столбики — пренатально стрессированные с физиологическим раствором, квадратная штриховка — пренатально стрессированные с флуоксетином, продольная штриховка — пренатально стрессированные с бупироном. Уровень значимости:  $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$  между пренатально стрессированными с физиологическим раствором и контролем;  $^+p < 0.05$ ,  $^{++}p < 0.01$  — между пренатально стрессированными с физиологическим раствором и пренатально стрессированными с флуоксетином;  $^{\wedge}p < 0.05$ ,  $^{\wedge\wedge}p < 0.01$  — между пренатально стрессированными с физиологическим раствором и пренатально стрессированными с бупироном;  $^{\#}p < 0.05$ ,  $^{\#\#}p < 0.01$ ,  $^{\#\#\#}p < 0.001$  — между серией I и серией II пренатально стрессированными с физиологическим раствором и пренатально стрессированными с флуоксетином. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка.

**Fig. 1.** Effect of prenatal effects (prenatal administration of fluoxetine, buspirone, prenatal stress) (Series I) and their combination with the stress during the prepubertal period (Series II) on the inflammatory pain response in the formalin test in adult male (A, B) and female (C, D) rats.

Vertically — the number of flexes + shakes (the spinal level) (A, B) and the licking duration (the supraspinal level) (s) (C, D). White columns — non-prenatally stressed (the control), gray columns — prenatally stressed with saline solution, square hatch — prenatally stressed with fluoxetine, the lengthwise hatch — prenatally stressed with buspirone. Significance level:  $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$  between the prenatally stressed with saline and control;  $*p < 0.05$ ,  $^{++}p < 0.01$  — between the prenatally stressed with saline and the prenatally stressed with fluoxetine;  $*p < 0.05$ ,  $^{\wedge}p < 0.01$  — between the prenatally stressed with saline and the prenatally stressed with buspirone;  $^{\#}p < 0.05$ ,  $^{\#\#}p < 0.01$ ,  $^{\#\#\#}p < 0.001$  — between the series I and series II prenatally stressed with saline and the prenatally stressed with fluoxetine. Data are presented as mean  $\pm$  standard error.



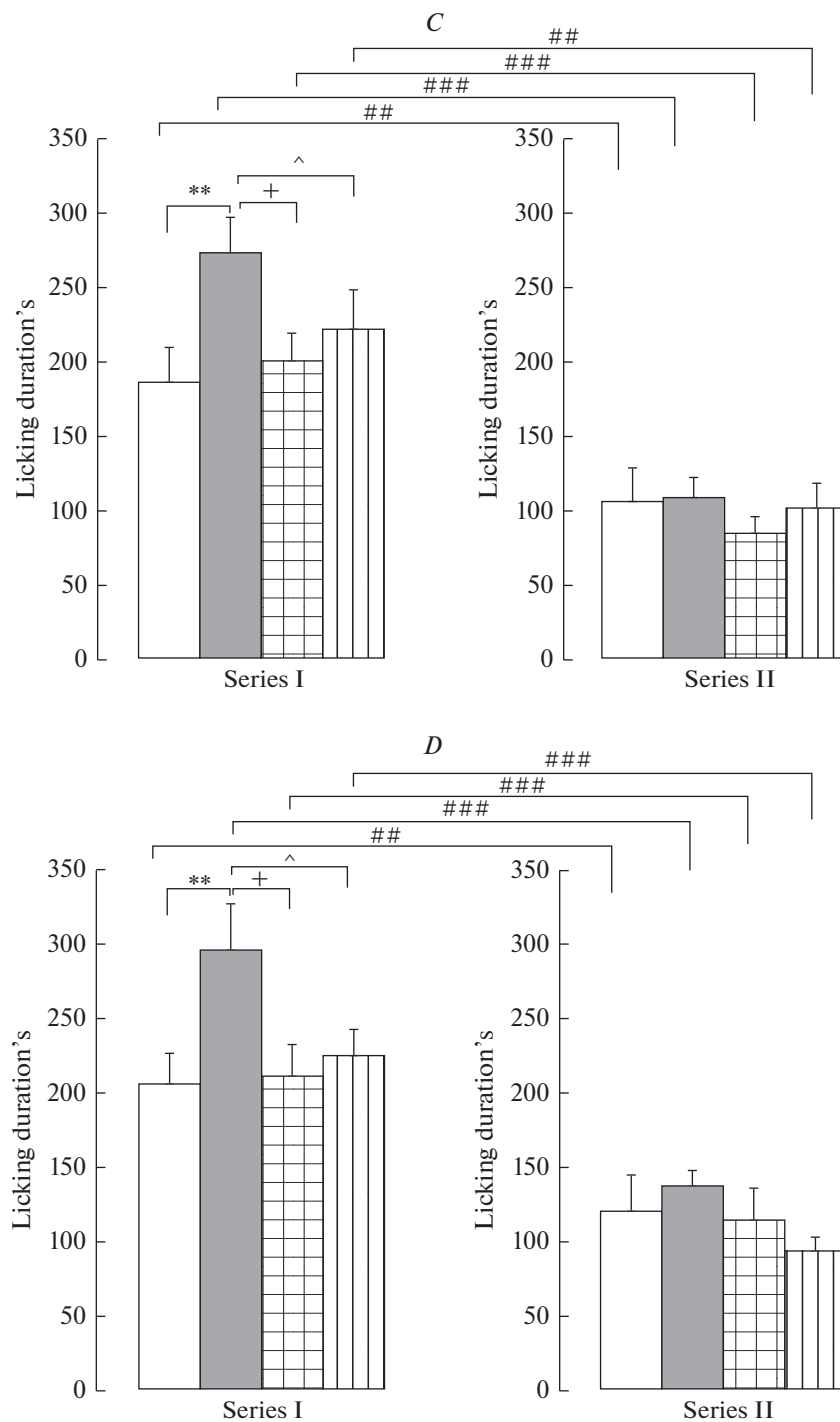


Рис. 1. Окончание



самцов (рис. 2А, В). Таким образом, в серии I пренатальный стресс увеличил уровень выраженности депрессивноподобного поведения у взрослых крыс по сравнению с контролем, флуоксетин и бупирон нормализовали психоэмоциональное поведение. Стресс в препубертатном возрасте увеличил уровень депрессивноподобного поведения у пренатально стрессированных самок, но не изменил у пренатально стрессированных самцов. Половые различия, обнаруженные в серии I у пренатально не стрессированных и пренатально стрессированных животных, с более высоким показателем депрессивноподобного поведения у самцов, были нивелированы стрессом в препубертатный период развития.

При исследовании уровня кортикостерона обнаружен значимый главный эффект для фактора серия  $F(1,75) = 25.1$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ,  $\eta^2 = 0.25$ , а также выявлена тенденция для фактора воздействие  $F(3,75) = 2.6$ ,  $p = 0.056$ ,  $\eta^2 = 0.096$ . Post hoc анализ обнаружил снижение уровня кортикостерона у пренатально стрессированных самок с введением бупирона ( $p = 0.011$ ) по сравнению с уровнем гормона пренатально стрессированных с физиологическим раствором крыс, уровня флуоксетина – на уровне тенденции ( $p = 0.069$ ). Post hoc анализ показал, что после теста принудительного плавания уровень кортикостерона повысился у пренатально не стрессированных крыс ( $p = 0.049$ ) по сравнению с их базальным уровнем гормона, у пренатально стрессированных с физиологическим раствором крыс ( $p = 0.021$ ) по сравнению с их базальным уровнем гормона, а также у пренатально стрессированных крыс с флуоксетином ( $p = 0.024$ ) и пренатально стрессированных крыс с бупироном ( $p = 0.003$ ) по сравнению с базальным уровнем кортикостерона у крыс этих групп. Не было выявлено достоверных различий в уровне кортикостерона между крысами пренатально не стрессированными, пренатально стрессированными с физиологическим раствором, пренатально стрессированными с флуоксетином и пренатально стрессированными с бупироном (табл. 1).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В проведенном исследовании мы идентифицировали условия стрессовых воздействий, которые повышают устойчивость к стрессу у взрослых крыс. Показано, что сочетание пренатальных воздействий (введение флуоксетина или бупирона стрессированным в период беременности самкам) и стресса в препубертатном возрасте (воспалительная боль и принудительное плавание) вызывало у взрослых крыс обоего пола достоверное снижение тонического болевого воспалительного ответа, интегрированного на супраспинальном уровне, по сравнению с соответствующим ответом у контрольных взрослых крыс. Сочетание стресса в пренатальный и препубертатный периоды развития нивелировало половые различия, обнаруженные в уровне психоэмоционального поведения у пренатально не стрессированных и пренатально стрессированных крыс. У самок, подвергнутых сочетанию пренатальных воздействий и стресса в препубертатном возрасте, уровень кортикостерона в плазме крови после принудительного плавания был достоверно выше базального уровня гормона у самок во всех исследованных группах, но достоверных различий в уровне стрессовой реактивности гормонального ответа после принудительного плавания обнаружено не было.

Пренатальный стресс вызвал у взрослых крыс увеличение продолжительности вылизывания в тоническую фазу формалинового теста и времени иммобильности (показатель депрессивноподобного поведения) в тесте принудительного плавания, что подтвердило наши ранее опубликованные данные на взрослых крысах [26]. Многочисленные данные литературы, полученные как на человеке [2, 4], так и на животных [7, 10, 11], указывают на негативные последствия в поведении, вызванные пренатальным стрессом, в частности, на усиление тревожно-депрессивного

поведения. В настоящем исследовании впервые представлены данные о снижении, вызванном пренатальным введением флуоксетина, интенсивности воспалительного болевого ответа и уровня выраженности депрессивноподобного поведения у пренатально стрессированного женского взрослого потомства. Этот результат указывает на способность антидепрессанта флуоксетина вызывать антиноцицептивное влияние, что расширяет имеющиеся немногочисленные, часто противоречивые, данные о роли флуоксетина в ноцицепции [27, 28]. Хроническое введение буспирона стрессированным беременным самкам вызывало также снижение показателей исследованного адаптивного поведения у потомства, что подтвердило наши данные, полученные ранее на взрослых крысах [24] и пренатально стрессированных крысах препубертатного возраста, подвергнутых в пренатальный период развития действию буспирона и флуоксетина [14]. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что антидепрессант флуоксетин и анксиолитик буспирон при определенных условиях способны вызывать антидепрессивный и антиноцицептивный эффекты.

Стресс в препубертатный период развития вызвал усиление болевого ответа, интегрированного на спинальном уровне, только у самцов. В литературе сообщается о последствиях стресса в препубертатный период развития (хронический комбинированный стресс или социальный стресс), обнаруженных в психоэмоциональном поведении и когнитивной сфере взрослых крыс [29, 30]. Неидентичность результатов определяется многими факторами, включая и половые различия.

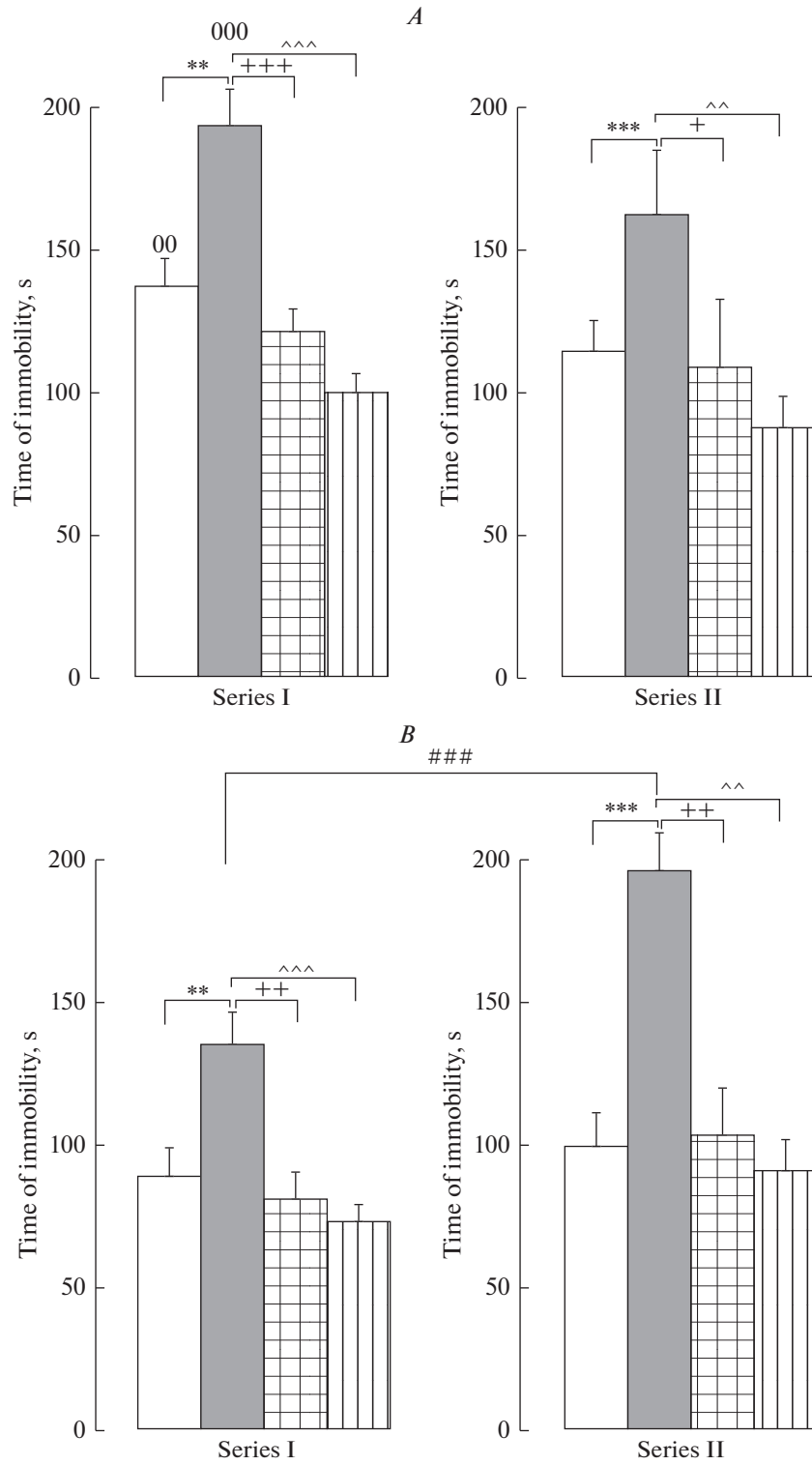
В настоящей работе при исследовании интенсивности воспалительного болевого ответа в формалиновом тесте нами был обнаружен важный факт, свидетельствующий о зависимости результата влияния сочетания примененных стрессоров на интенсивность ответа от уровня интеграции болевой реакции. Так, продолжительность реакции вылизывания, интегрированной на супраспинальном уровне, со-

**Рис. 2.** Влияние пренатальных воздействий (пренатальное введение флуоксетина, буспирона, пренатальный стресс) (Серия I) и их сочетания со стрессом в препубертатный период развития (Серия II) на время иммобильности в тесте принудительного плавания у взрослых самцов (A) и самок (B) крыс.

По вертикали – время иммобильности (с). Белые столбики – пренатально не стрессированные (контроль), серые столбики – пренатально стрессированные с физиологическим раствором, квадратная штриховка – пренатально стрессированные с флуоксетином, продольная штриховка – пренатально стрессированные с буспироном. Уровень значимости:  $**p < 0.01$ ,  $***p < 0.001$  между пренатально стрессированными с физиологическим раствором и контролем;  $^+p < 0.05$ ,  $^{++}p < 0.01$ ,  $^{+++}p < 0.001$  – между пренатально стрессированными с физиологическим раствором и пренатально стрессированными с флуоксетином;  $^{\wedge}p < 0.01$ ,  $^{\wedge\wedge}p < 0.001$  – между пренатально стрессированными с физиологическим раствором и пренатально стрессированными с буспироном;  $^{##}p < 0.001$  – между серией I и серией II пренатально стрессированными с физиологическим раствором и пренатально стрессированными с флуоксетином;  $^{00}p < 0.01$ ,  $^{000}p < 0.001$  – половые различия между пренатально не стрессированными и пренатально стрессированными крысами в серии I. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка.

**Fig. 2.** Effect of prenatal effects (prenatal administration of fluoxetine, buspirone, prenatal stress) (Series I) and their combination with the stress during the prepubertal period (Series II) on immobility in the forced swimming test in adult males (A) and female (B) rats.

Vertically – immobility time (s). White columns – non-prenatally stressed (the control), gray columns – prenatally stressed with saline solution, square hatch – prenatally stressed with fluoxetine, the lengthwise hatch – prenatally stressed with buspirone. Significance level:  $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$  between the prenatally stressed with saline and control;  $*p < 0.05$ ,  $^{++}p < 0.01$  – between the prenatally stressed with saline and the prenatally stressed with fluoxetine;  $*p < 0.05$ ,  $^{\wedge}p < 0.01$  – between the prenatally stressed with saline and the prenatally stressed with buspirone;  $^{\#}p < 0.05$ ,  $^{##}p < 0.01$ ,  $^{###}p < 0.001$  – between the series I and series II prenatally stressed with saline and the prenatally stressed with fluoxetine. Data are presented as mean  $\pm$  standard error.



кратилась (более чем на 50%) во всех группах самцов и самок крыс, подвергнутых стрессовым воздействиям в пренатальный и препубертатный периоды развития, что указывает на повышение стрессоустойчивости к воспалительной боли у взрослых крыс. В этих условиях влияние флуоксетина и буспирона не проявилось, различий в величине болевого ответа у крыс в разных группах не было выявлено, тогда как у крыс, не подвергнутых стрессу в препубертатном возрасте (серия I), флуоксетин и буспирон у пренатально стрессированных животных обоего пола вызывали антиноцицептивный эффект, подавляли проноцицептивное влияние пренатального стресса. Совсем другой эффект – увеличение интенсивности болевого ответа – был обнаружен в числе сгибаний + встряхиваний у самцов всех исследованных групп и только у пренатально стрессированных самок. Таким образом, последствия сочетания стрессоров в разные возрастные периоды проявились у взрослых крыс по-разному в реакциях, интегрированных на разных уровнях ЦНС: в повышенной чувствительности, то есть уязвимости, к стрессу воспалительной боли в реакциях спинального уровня и в устойчивости к стрессу в реакциях супраспинального уровня. Формалиновый тест, как известно, широко используется для оценки влияния разных препаратов на ноцицептивную систему [31]. Результаты нашей работы подтверждает информативность формалинового теста при оценке влияний стрессовых событий на болевую систему.

Мы не можем сравнить наши результаты с данными литературы, так как не обнаружили работ, в которых использовали стресс воспалительной боли в качестве стрессового воздействия в раннем возрасте в сочетании с каким-либо другим стрессом, хотя воспалительная боль часто встречается в неонатальной клинике. Каким образом сочетание стрессовых воздействий в критические периоды индивидуального развития вызывает усиление интегрированного на спинальном уровне воспалительного болевого ответа и снижение его на супраспинальном уровне у крыс во взрослом состоянии? На поставленный вопрос мы можем только сделать предположение: увеличение числа сгибаний и встряхиваний, вызванное сочетанием стрессоров, обусловлено возбуждающей глутаматергической системой, а сокращение продолжительности реакции вылизывания – усилением тормозного ГАМКергического влияния на супраспинальном уровне. Действительно, боль, вызванная формалином, активирует интенсивные реакции сгибания, встряхивания и вылизывания поврежденной воспалительным агентом конечности, сопровождающиеся доминирующим действием возбуждающей глутаматергической системы на спинальном уровне [32]. Известно, что в механизмах формирования ноцицептивного возбуждения в ответ на инъекцию формалина принимают участие разные уровни ЦНС, включая кору головного мозга [33]. По имеющимся данным, нисходящая из ядер шва моноаминергическая система регулирует ноцицептивный сигнал на уровне задних рогов спинного мозга; показаны как афферентные пути от нейронов спинного мозга к ядрам шва, так и эфферентные пути из ядер шва на спинальные нейроны [34]. Известно, что серотонинергическая, ГГНС, глутаматергическая, ГАМКергическая системы вовлечены в ноцицепцию и подвержены влиянию стресса [35–38]. Стресс нарушает баланс процессов возбуждения и торможения в ЦНС и функциональную активность ГГНС, которая влияет на системы контроля болевой нисходящей серотонинергической системы, и, таким образом, на нейрофизиологические механизмы, лежащие в основе восприятия боли. Принимая во внимание разную роль метаботропных и инотропных как глутаматергических [39], так и ГАМКергических [35] рецепторов во влиянии стресса на ноцицепцию, а также механизм котрансмиссии глутамата с серотонинергическими и ГАМКергическими нейронами [40], можно предположить, что эти факторы вовлечены в обнаруженные нами различия во влиянии стресса в разные периоды развития крысы на

воспалительный болевой ответ, интегрированный на спинальном и супраспинальном уровнях ЦНС.

Надо отметить, что влияние препубертатного стресса, проявившееся в увеличении интенсивности болевой ответа спинального уровня, обнаружено у пренатально не стрессированных, пренатально стрессированных с физиологическим раствором и пренатально стрессированных с введением флуоксетина самцов, тогда как у самок — только в группе пренатально стрессированных с введением физиологического раствора. Однако не было обнаружено половых различий в интенсивности болевой ответа в обеих сериях экспериментов.

У взрослых пренатально стрессированных крыс как подвергнутых, так и не подвергнутых стрессированию в препубертатном возрасте, уровень выраженности депрессивноподобного поведения был повышен по сравнению с уровнем депрессивного поведения у контрольных крыс в соответствующих группах. Хроническое введение флуоксетина и буспирона стрессированным беременным самкам нормализовало этот тип поведения у взрослого потомства обоего пола. Различия между сериями I и II были выявлены в усилении времени иммобильности только у пренатально стрессированных самок. Несмотря на отсутствие в серии I достоверности во времени иммобильности у пренатально стрессированных с препаратами самцов и самок, степень выраженности депрессивноподобного поведения у самок как с флуоксетином, так и буспироном, была ниже, чем у самцов. Половые различия, обнаруженные в уровне депрессивноподобного поведения у пренатально не стрессированных и пренатально стрессированных крыс с введением физиологического раствора (серия I) были нивелированы стрессом в препубертатном возрасте (серия II). В литературе есть данные, что самки в препубертатном возрасте более чувствительны к стрессу, чем самцы [30], однако эти данные касаются только социального стресса. Итак, результаты, полученные как при исследовании воспалительного болевой ответа, так и уровня выраженности депрессивноподобного поведения, свидетельствуют о сложности механизмов долговременного влияния сочетания стресса в разные критические периоды развития на гормональные и нейротрансмиттерные системы. Хотя механизм этого важного адаптивного явления изучается на молекулярно-генетическом уровне, нерешенными остаются многие вопросы, включая вопрос: на каком этапе развития происходит трансформация нарушений в нейрогуморальной регуляции, вызванных стрессом в раннем возрасте, в адаптивный процесс.

Таким образом, полученные данные позволили идентифицировать условия стрессовых воздействий, повышающих устойчивость к стрессу у взрослых крыс. Установлено, что стресс в критические периоды развития формирует фенотип с повышенной стрессоустойчивостью к воспалительному болевому воздействию, что обнаружено в ответе, организованном на супраспинальном уровне у взрослых особей. Влияние стресса на депрессивно-подобное поведение проявляется в зависимости от пола животных. Важность положительного результата при взаимодействии двух негативных стрессоров очевидна: повышается стрессоустойчивость и появляется возможность отмены антидепрессантов, применение которых становится уже не эффективным. Полученные новые данные расширяют представление об уязвимости и устойчивости индивидуумов, подвергнутых стрессовым событиям в критические периоды жизни, к стрессу в последующем онтогенезе [17, 19, 20] и имеют практическое значение.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 17-04-00214а.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Matthews S.G., McGowan P.O.* Developmental programming of the HPA axis and related behaviours: epigenetic mechanisms. *J. Endocrinol.* 242(1): T69–T79. 2019.  
<https://doi.org/10.1530/JOE-19-0057>
2. *Monk C., Lugo-Candelas C., Trumpff C.* Prenatal developmental origins of future psychopathology: mechanisms and pathways. *Ann. Rev. Clin. Psychol.* 15: 317–344. 2019.
3. *LeMoult J., Humphreys K.L., Tracy A., Hoffmeister J.A., Ip E., Gotlib I.H.* Meta-Analysis: Exposure to Early Life Stress and Risk for Depression in Childhood and Adolescence. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* pii: S0890-8567(19)32111-2.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaac.2019.10.011>
4. *Targum S.D., Nemeroff C.B.* The effect of early life stress on adult psychiatric disorders. *Innov. Clin. Neurosci.* 16(1–2): 35–37. 2019.
5. *Tirelli E., Laviola G., Adriani W.* Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27 (1–2): 163–178. 2003.
6. *Spear L.P.* The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24(4): 417–463. 2000.
7. *Weinstock M.* Prenatal stressors in rodents: Effects on behavior. *Neurobiology of stress.* 6: 3–13. 2017.
8. *Gomes F.V., Zhu X., Grace A.A.* Stress during critical periods of development and risk for schizophrenia. *Schizophr Res.* 2019. pii: S0920-9964(19)30020-9.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.01.030>
9. *Bourke C.H., Neigh G.N.* Behavioral effects of chronic adolescent stress are sustained and sexually dimorphic. *Horm. Behav.* 60(1): 112–20. 2011.
10. *Chen L., Jackson T.* Early maternal separation and responsiveness to thermal nociception in rodent offspring: A meta-analytic review. *Behav. Brain. Res.* 299: 42–50. 2016.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.11.022>
11. *Peña C.J., Nestler E.J., Bagot R.S.* Environmental programming of susceptibility and resilience to stress in adulthood in male mice. *Front. Behav. Neurosci.* 13: 40. 2019.  
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00040>
12. *Lipner E., Murphy S.K., Ellman L.M.* Prenatal maternal stress and the cascade of risk to schizophrenia spectrum disorders in offspring. *Curr. Psychiatry. Rep.* 21(10): 99. 2019.  
<https://doi.org/10.1007/s11920-019-1085-1>
13. *Kiryanova V., Smith V.M., Antie M. C., Dyck R.H.* Behavior of adult 5-HT1A receptor knockout mice exposed to stress during prenatal development. *Neuroscience.* 371: 16–28. 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.11.039>
14. *Butkevich I.P., Mikhailenko V.A., Verшинина E.A., Barr G.A.* Differences between the prenatal effects of fluoxetine or buspirone alone or in combination on pain and affective behaviors in prenatally stressed male and female rats. *Front. Behav. Neurosci.* 13(125): 16. 2019.  
doi: 103389/fnbeh.2019.00125
15. *Hervás I., Artigas F.* Effect of fluoxetine on extracellular 5-hydroxytryptamine in rat brain. Role of 5-HT autoreceptors. *Eur. J. Pharmacol.* 358(1): 9–18. 1998.
16. *Brummelte S., Mc Glanaghy E., Bonnin A., Oberlander T.F.* Developmental changes in serotonin signaling: Implications for early brain function, behavior and adaptation. *Neuroscience.* 342: 212–231. 2017.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.02.037>
17. *Van Camp G., Cigalotti J., Bouwalerh H., Mairesse J., Gatta E., Palanza P., Maccari S., Morley-Fletcher S.* Consequences of a double hit of stress during the perinatal period and midlife in female rats: Mismatch or cumulative effect? *Psychoneuroendocrinology.* 93: 45–55. 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.04.004>
18. *Verstraeten B.S.E., McCreary J., Weyers S., Metz G.A.S., Olson D.M.* Prenatal two-hit stress affects maternal and offspring pregnancy outcomes and uterine gene expression in rats: match or mismatch? *Biol. Reprod.* 100(1): 195–207. 2019.  
<https://doi.org/10.1093/biolre/i0y166>
19. *Nederhof E., Schmidt M.V.* Mismatch or cumulative stress: Toward an integrated hypothesis of programming effects. *Physiol. Behav.* 106: 691–700. 2012.
20. *Daskalakis N.P., Bagot R.C., Parker K.J., Vinkers C.H., Kloet E.R.* The three-hit concept of vulnerability and resilience: towards understanding adaptation to early-life adversity outcome. *Psychoneuroendocrinology.* 38(9): 1858–1873. 2013.
21. *Михайленко В.А., Буткевич И.П., Вершинина Е.А.* Влияние перинатального стресса и антидепрессантов на воспалительный болевой ответ и психоэмоциональное поведение у молодых самцов крыс. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 105(7): 888–901. 2019.  
[Mikhailenko V.A., Butkevich I.P., Verшинina E.A. Influence of perinatal stress and antide-

- pressants on the acute and tonic pain responses and psycho-emotional behavior in young male rats. *Russ. J. Physiol.* 105(7): 880–901. 2019. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.1134/S0869813919070057>
22. Marrocco J., Gray J.D., Kogan J.F., Einhorn N.R., O'Conneide E.M., Rubin T.D., Carroll T.S., Schmidt E.F., McEwen B.S. Early life stress restricts translational reactivity in CA3 neurons associated with altered stress responses in adulthood. *Front. Behav. Neurosci.* 13: 157. 2019.  
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00157>
  23. Kilkenny C., Browne W.J., Cuthill I.C., Emerson M., Altman D.G. Improving bioscience research reporting: The ARRIVE guidelines for reporting animal res. *PLoS. Biol.* 8(6): e1000412. 2010.
  24. Butkevich I., Mikhailenko V., Vershinina E., Semionov P., Makukhina G., Otellin V. Maternal buspirone protects against the adverse effects of in utero stress on emotional and pain-related behaviors in offspring. *Physiol. Behav.* 2011; 102(2): 137–42.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.10.023>
  25. Glover M.E., Clinton S.M. Of rodents and humans: A comparative review of the neurobehavioral effects of early life SSRI exposure in preclinical and clinical research. *Int. J. Dev. Neurosci.* 51: 50–72. 2016.
  26. Butkevich I.P., Vershinina E. A. Maternal stress differently alters nociceptive behaviors in the formalin test in adult female and male rats. *Brain Res.* 961: 159–165. 2003.
  27. Barakat A., Hamdy M.N., Elbadr M.M. Uses of fluoxetine in nociceptive pain management: A literature overview. *Eur. J. Pharmacol.* 829: 12–25. 2018.
  28. Riediger C., Schuster T., Barlinn K., Maier S., Weitz J., Siepmann T. Adverse effects of antidepressants for chronic pain: a systematic review and meta-analysis. *Front Neurol.* 8: 307. 2017.  
<https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00307>
  29. Burke A.R., McCormick C. M., Pellis S.M., Lukkes J.L. Impact of adolescent social experiences on behavior and neural circuits implicated in mental illnesses. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 76 (Pt B): 280–300. 2017.  
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.018>
  30. McCormick C.M., Green M.R. From the stressed adolescent to the anxious and depressed adult: investigations in rodent models. *Neuroscience.* 249: 242–57. 2013.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.08.063>
  31. Dulu T.D., Kanui T.I., Towett P.K., Maloiy G.M., Abelson K.S. *In Vivo*. The effects of oxotremorine, epibatidine, atropine, mecamylamine and naloxone in the tail-flick, hot-plate, and formalin tests in the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*). *In Vivo.* 28(1): 39–48. 2014.
  32. Vidal-Torres A., Carceller A., Zamanillo D., Merlos M., Vela J.M., Fernandez-Pastor B. Evaluation of formalin-induced pain behavior and glutamate release in the spinal dorsal horn using in vivo microdialysis in conscious rats. *J. Pharmacol. Sci.* 120: 129–132. 2012.
  33. Morrow T.J., Paulson P.E., Danneman P.J., Casey K.L. Regional changes in forebrain activation during the early and late phase of formalin nociception: analysis using cerebral blood flow in the rat. *Pain.* 75(2–3): 355–365. 1998.
  34. Braz J.M., Enquist L.W., Basbaum A.I. Inputs to serotonergic neurons revealed by conditional viral transneuronal tracing. *J. Comp. Neurol.* 514(Iss.2): 145–160. 2009.
  35. Goudet C., Magnaghi V., Landry M., Nagy F., Gereau R.W., Pin J-P. Metabotropic receptors for glutamate and GABA in pain. *Brain. Res. Rev.* 60: 43–56. 2009.
  36. Quintero L., Cardenas R., Suarez-Roca H. Stress-induced hyperalgesia is associated with a reduced and delayed GABA inhibitory control that enhances post-synaptic NMDA receptor activation in the spinal cord. *Pain.* 152(8): 1909–22. 2011.  
<https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.04.017>
  37. Bannister K., Lockwood S., Goncalves L., Patel R., Dickenson A.H. An investigation into the inhibitory function of serotonin in diffuse noxious inhibitory controls in the neuropathic rat. *Eur. J. Pain.* 2017 Apr; 21(4): 750–760.  
<https://doi.org/10.1002/ejp.979>
  38. Hernández-Vázquez F., Garduño J., Hernández-López S. GABAergic modulation of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus. *Rev. Neurosci.* 30(3): 289–303. 2019.  
Doi: 10.1515/revneuro-2018-0014
  39. Lian Y.N., Lu Q., Chang J.L., Zhang Y. The role of glutamate and its receptors in central nervous system in stress-induced hyperalgesia. *Int. J. Neurosci.* 128(3): 283–290. 2018  
<https://doi.org/10.1080/00207454.2017.1387112>
  40. Trudeau L.E., Mestikawy S. Glutamate Cotransmission in Cholinergic, GABAergic and Monoamine Systems: Contrasts and Commonalities. *Front. Neural. Circuits.* 12: 113. 2018.  
<https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00113>

**Combination of Stressful Influences during Critical Periods of Development  
Increases Resistance to Stress of Inflammatory Pain in Adult Rats**

**I. P. Butkevich<sup>a, b,\*</sup>, V. A. Mikhailenko<sup>a</sup>, and E. A. Vershinina<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Pavlov Institute of Physiology, Rus. Acad. Sci., St. Petersburg, Russia*

<sup>b</sup>*Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia*

\*e-mail: irinabutkevich@yandex.ru

We studied the long-term effect of the combination of stress in the prenatal and prepubertal periods of development on indicators of tonic inflammatory pain in the formalin test and the depressive-like behavior, as well as on the stress reactivity of the hormonal response in adult rats. In addition, in rats of both sexes, the effect of serotonin reuptake inhibitor (5-HT) fluoxetine and 5-HT1A agonist buspirone, chronically administered to their stressed mothers during pregnancy, on the studied types of adaptive behavior disturbed by prenatal stress was evaluated. It was found that in rats of both sexes, prenatal stress intensified the pain response organized at the spinal and supraspinal levels of the central nervous system, fluoxetine and buspirone normalized them. Stress in the prepubertal period of development leveled the effect of prenatal stress on the inflammatory pain response integrated at the supraspinal level in adult rats; under these conditions, fluoxetine and buspirone did not act, unlike their antinociceptive effect on the pain response integrated at the spinal level. Stress in prepubertal age leveled the sex differences found in the depressive-like behavior in prenatally non-stressed and prenatally stressed rats with saline. In control adult females and adult females with prenatal effects, prepubertal stress increased plasma corticosterone after forced swimming compared to basal hormone levels, but no significant differences in the level of stress reactivity of the hormonal response after forced swimming were found. Thus, the conditions of stressful impacts that increase resistance to stress in adult rats are identified. Stress in critical periods of development forms a phenotype with increased stress resistance to inflammatory pain, which was found in the response organized at the supraspinal level in adults.

*Keywords:* stress in the prenatal and prepubertal periods, adult male and female rats, inflammatory pain, depressive behavior, corticosterone

**ЦИТИРОВАТЬ:**

Буткевич И.П., Михайленко В.А., Вершинина Е.А. Сочетание стрессовых воздействий в критические периоды развития повышает устойчивость к стрессу воспалительной боли у взрослых крыс. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 106(3): 267–282.

DOI: 10.31857/S0869813920030024

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Butkevich I.P., Mikhailenko V.A., Vershinina E.A. Combination of Stressful Influences during Critical Periods of Development Increases Resistance to Stress of Inflammatory Pain in Adult Rats. Russian Journal of Physiology. 106(3): 267–282.

DOI: 10.31857/S0869813920030024