
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ЭФФЕКТЫ СЕМАКСА В МОДЕЛЯХ ОСТРОГО
СТРЕССОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

© 2023 г. Н. Ю. Глазова^{1, 2}, Д. М. Манченко¹, Д. А. Виленский^{1, 3},
Е. А. Себенцова^{1, 2}, Л. А. Андреева², А. А. Каменский^{1, 2}, Л. В. Дергунова²,
С. А. Лимборская², Н. Ф. Мясоедов², Н. Г. Левицкая^{1, 2, *}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

²Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра
“Курчатовский институт”, Москва, Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

*E-mail: nlevitskaya@gmail.com

Поступила в редакцию 13.10.2022 г.

После доработки 10.12.2022 г.

Принята к публикации 11.12.2022 г.

Острое стрессогенное воздействие вызывает в организме человека и животных каскад нейрохимических реакций, приводящих, в частности, к изменению поведения и повышению толерантности к боли. Важную роль в регуляции реакции организма на стрессорные воздействия играют АКТГ/МСГ-подобные пептиды. Целью представленной работы явилось изучение эффектов аналога АКТГ_{4–10} гептапептида семакс в различных моделях острого стресса. Было исследовано влияние внутрибрюшинного введения семакса в дозах 0.05 и 0.5 мг/кг на изменения поведения и болевой чувствительности крыс Wistar в моделях прерывистого неизбежного электроболевого раздражения и принудительного плавания в холодной воде. Для оценки вовлеченности эндогенной опиоидной системы в эффекты стресса исследовали влияние предварительного введения антагониста опиоидных рецепторов налоксона (1 мг/кг). Используемые стрессогенные воздействия приводили к увеличению болевого порога в тесте “сдавливания задней лапы”, что свидетельствует о развитии стресс-вызванной анальгезии. Кроме того, у крыс, перенесших стресс, наблюдалось снижение исследовательского поведения и возрастание уровня тревожности в тесте “норковая камера”. Как семакс, так и налоксон ослабляли стресс-вызванную анальгезию в модели электроболевого раздражения, но не влияли на величину болевого порога в модели принудительного плавания. Оба исследованных препарата не влияли на поведение крыс в использованных моделях острого стресса. Можно заключить, что семакс ослабляет опиоидную форму стресс-вызванной анальгезии, но не влияет на изменения поведения крыс, перенесших острое стрессогенное воздействие.

Ключевые слова: острый стресс, семакс, налоксон, электроболевое раздражение, принудительное плавание, тревожность, болевая чувствительность

DOI: 10.31857/S0869813923010053, **EDN:** IYBRAD

Стрессогенные воздействия являются неотъемлемой частью жизни любого организма. Стресс можно определить как сложное динамическое состояние, при котором нарушается или находится под угрозой устойчивая внутренняя среда организ-

ма (гомеостаз) [1, 2]. Воздействие стрессора активирует физиологические и психологические реакции организма, направленные на поддержание гомеостаза (стрессорные реакции) [3, 4]. Способность адекватно реагировать на стресс имеет решающее значение для выживания. Нарушение регуляции нейрохимических и нейроэндокринных реакций на стресс играет ключевую роль в возникновении и/или обострении ряда психических и неврологических расстройств, включая тревожность, депрессию и хроническую боль. Исследование реакции на стресс и факторов, которые ее модулируют, необходимо для понимания этиологии связанных со стрессом расстройств и разработки новых подходов к их лечению [2, 5].

Реакция организма на стрессорное воздействие опосредуется координированным действием центральной и периферической нервной системы. В ответ на действие стрессора происходит высвобождение нейромедиаторов, нейропептидов и гормонов, инициирующих системную реакцию организма. Активация симпатно-адреналовой системы приводит к выбросу адреналина и норадреналина, которые регулируют периферические реакции на стрессор. Активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси включает несколько последовательных этапов передачи сигналов: выброс кортикотропин-рилизинг-гормона нейронами гипоталамуса; высвобождение адренокортикотропного гормона (АКТГ) передней долей гипофиза; стимуляция выброса глюкокортикоидов корой надпочечников [4, 6]. Поступившие в кровь глюкокортикоиды взаимодействуют со специфическими рецепторами в мозге, воздействуя на когнитивные функции и адаптивное поведение [7]. Кроме того, в развитие стрессорного ответа вовлечены также опиоидная, серотонинергическая, дофаминергическая, ГАМК-ергическая, глутаматная, эндоканабиноидная и другие нейромедиаторные системы мозга [8, 9].

Острое стрессогенное воздействие вызывает в организме человека и животных каскад нейрохимических реакций, приводящих, в частности, к изменению поведения и повышению толерантности к боли. У животных, перенесших стресс, наблюдается снижение исследовательской активности, увеличение уровня тревожности и страха [10]. В регуляцию поведенческого ответа на действие стрессора вовлечены многочисленные нейрохимические механизмы, которые включают в себя различные нейромедиаторы (катехоламины, ГАМК, возбуждающие аминокислоты), а также гормоны, нейротрофины и регуляторные пептиды [2, 7, 11, 12]. Воздействие острого стресса также приводит к снижению болевой чувствительности, развивается стресс-вызванная анальгезия (СВА) [4, 13]. СВА опосредуется активацией антиноцицептивных нисходящих систем, которые подавляют пути передачи болевых стимулов от ноцицепторов к ЦНС [3]. Известно, что СВА может опосредоваться как опиоидными, так и неопиоидными механизмами, различают опиоидную и неопиоидную формы СВА [2, 4, 13]. В развитии неопиоидной СВА участвуют различные нейромедиаторы, такие как серотонин, дофамин, гистамин, эндоканабиноиды, ГАМК, глутамат и др. В зависимости от природы и длительности стрессорного воздействия, а также от вида болевого стимула может происходить как отдельная, так и совместная активация опиоидных и неопиоидных механизмов СВА [2, 4].

Пептиды, относящиеся к семейству меланокортинов (МС), включают в себя АКТГ, α -, β - и γ -меланоцитстимулирующие гормоны (α -, β - и γ -МСГ), фрагменты этих гормонов и их синтетические аналоги. Все эндогенные МС образуются из общего белка предшественника – проопиомеланокортина (ПОМК) [14, 15]. В настоящее время выделено 5 типов меланокортиновых рецепторов – MC1R–MC5R. Рецепторы MCR3 и MCR4 широко представлены в нервной системе, а MC2R экспрессируется преимущественно в клетках коры надпочечников [15, 16]. Все эндогенные МС способны связываться с различными МС-рецепторами, исключением является MC2R – единственным известным эндогенным лигандом этих рецепторов является молекула АКТГ [15]. В структуре всех природных МС присутствует общая последо-

вательность, соответствующая фрагменту АКТГ₄₋₉ — ME(G)HFRW, эта последовательность необходима для связывания со всеми типами MCR [17]. Для активации MC2R помимо АКТГ₄₋₉ нужна последовательность АКТГ₁₅₋₁₈ (KKRR), которая отсутствует в структуре MCG [18].

МС играют важную роль в регуляции эмоционального состояния и реакции организма на стрессорные воздействия [19, 20]. При остром стрессе увеличивается экспрессия мРНК генов ПОМК и MC4R [19]. Показано, что природные и синтетические агонисты MC4R стимулируют тревожность и анорексию, вызванные острым стрессом, а антагонисты этого рецептора ослабляют стресс-вызванные изменения поведения [21]. Все эти данные указывают на важную роль МС и MC4R в регуляции ответа на острый стресс [20, 22]. Большой интерес исследователей вызывает вопрос о взаимодействии МС с опиоидной системой мозга. Показано, что МС и опиоиды являются функциональными антагонистами в ЦНС — при совместном введении МС ингибируют анальгетические эффекты эндогенных опиоидов и морфина [16].

Гептапептид семакс (MENFPGP) является аналогом фрагмента АКТГ₄₋₁₀, полностью лишенным эндокринной активности и обладающим пролонгированным нейротропным действием [23]. Структура пептида включает в себя последовательность АКТГ₄₋₇ и обогащенный пролином трипептид PGP. В настоящее время семакс успешно используется в медицине в качестве ноотропного и нейропротекторного лекарственного средства [24]. Изучение эффектов семакса в норме и на фоне стрессогенных воздействий показало, что хроническое введение пептида приводит к снижению уровня тревожности и депрессивности крыс, а также ослабляет последствия хронического непредсказуемого стресса [25, 26]. При однократном введении семакс не оказывал влияния на уровень тревожности и депрессивности крыс в норме, но ослаблял анксиогенные эффекты холицистокинина-тетрапептида [27]. Введение пептида ослабляло когнитивные нарушения, вызванные острым иммобилизационным стрессом [28]. В модели острого стресса, вызванного принудительным плаванием при температуре 28°C, введение семакса перед стрессогенным воздействием блокировало опиоидную составляющую СВА, но не влияло на стресс-вызванные изменения поведения крыс [29].

Известно, что как природа СВА, так и изменения поведения, вызванные острым стрессом, зависят от вида стрессорного воздействия [2, 4]. Зависимость эффектов семакса от вида стрессирующего фактора ранее не исследовалась. Поэтому целью представленной работы явилось изучение эффектов семакса в различных моделях острого стресса. Задачей работы было исследование влияния семакса на изменения поведения и болевой чувствительности крыс в моделях неизбежного прерывистого электроболевого раздражения и принудительного плавания в холодной воде.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на самцах крыс Wistar массой 230–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде и соблюдением 12-часового светового режима дня.

Гептапептид семакс (MENFPGP) синтезирован в Институте молекулярной генетики Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”. Пептид вводили в водном растворе в дозе 0.05 или 0.5 мг/кг внутривентрально в объеме 1 мл/кг. Контрольным животным вводили эквивалентный объем стерильной дистиллированной воды в соответствующие сроки. Блокатор опиоидных рецепторов налоксон (Naloxone, Sigma, США) вводили внутривентрально, в водном растворе, в дозе 1 мг/кг (1 мл/кг).

Было проведено 3 независимых серии экспериментов. В первой серии опытов в качестве стрессорного воздействия использовали принудительное плавание в холодной воде. Семакс в дозе 0.05 или 0.5 мг/кг и налоксон вводили за 15 мин до начала воздействия. Было использовано 5 групп крыс (15–16 крыс в группе): группа Контроль (животные получали инъекцию растворителя в соответствующее время и не подвергались стрессорному воздействию, находились в домашней клетке); группа Стресс (крысы получали инъекцию растворителя и подвергались стрессорному воздействию); группы Стресс + налоксон, Стресс + семакс-0.05 и Стресс + семакс-0.5 (крысы получали инъекцию соответствующего препарата в указанной дозе и подвергались принудительному плаванию). Болевую чувствительность крыс в тесте “сдавливания задней лапы” измеряли через 5, 20 и 35 мин после окончания стрессогенного воздействия, поведение в “норковой камере” — через 15 мин после воздействия.

Во второй и третьей сериях экспериментов в качестве стрессора использовали прерывистое неизбегаемое электроболовое раздражение. Во второй серии семакс и налоксон вводили за 15 мин до начала воздействия. Было использовано 5 групп крыс, аналогично серии 1 (15–16 крыс в группе). Болевую чувствительность крыс измеряли через 5, 20 и 35 мин после окончания стрессогенного воздействия, поведение — через 15 мин после воздействия.

В третьей серии семакс вводили через 5 мин после окончания стрессогенного воздействия, а налоксон — за 15 мин до начала воздействия. Было использовано 4 группы животных: Контроль, Стресс, Стресс + налоксон и Стресс + семакс-0.5 (14–15 крыс в группе). Болевую чувствительность крыс измеряли через 10, 25 и 40 мин после окончания стрессогенного воздействия, поведение — через 20 мин после воздействия.

Модели острого стрессогенного воздействия

В модели принудительного плавания крыс помещали в прозрачные пластиковые цилиндры (высота 45, диаметр 20 см) на 2/3 заполненной водой (температура 12°C), длительность плавания составляла 5 мин. После окончания процедуры плавания крыс сушили полотенцем, а затем согревали при помощи фена. К моменту измерения болевой чувствительности (через 5 мин после окончания плавания) животные были согреты и практически высушены, что исключает влияние температуры конечностей на величину болевого порога в тесте “сдавливание задней лапы”.

В модели прерывистого электроболового раздражения крыс индивидуально помещали в экспериментальную камеру с решетчатым полом, соединенным с электростимулятором ЭСЛ-1. Электрическое раздражение наносили в течение 10 мин (10 с тока с интервалом 20 с) при частоте 200 Гц и длительности 0.5 мс. Напряжение варьировало от 60 до 100 В в зависимости от вокализации животного.

Тест “сдавливание задней лапы”

Величину болевого порога крыс до и после стресса измеряли в тесте “сдавливание задней лапы”, в котором болевым раздражителем служит равномерно нарастающее давление на заднюю конечность. Измерение проводилось с помощью анальгезиметра фирмы “Ugo Basile” (Италия). Уровень болевой чувствительности определяли по величине давления на конечность в момент отдергивания лапы. Давление измерялось в условных единицах (у.е.) прибора, одна у.е. соответствовала увеличению нагрузки на 20 г/см². Максимальная нагрузка на конечность составляла 25 у.е. До введения препаратов проводили три измерения исходной болевой чувствительности. При анализе результатов для вычисления фоновой болевой чувствительности исходные значения усредняли. После стресса проводили 3 измерения болевой чувствительности с интервалом 15 мин. При статистической обра-

ботке данных для каждого животного при каждом измерении вычисляли изменение болевой чувствительности относительно фоновых значений.

Тест “норковая камера”

Для оценки исследовательской активности и уровня тревожности крыс применяли тест “норковая камера”. Экспериментальная камера представляет собой ящик с передней стенкой из органического стекла ($40 \times 40 \times 30$ см). Пол камеры имеет 13 круглых отверстий (“норок”) и расчерчен на 9 квадратов. При тестировании животное помещали в угол камеры и в течение 3 мин визуальную регистрировали следующие показатели: величина пробега (число пересеченных квадратов), число стоек (подъемов на задние лапы), число обследованных норок (погружений головы в отверстие до уровня ушей).

Статистическая обработка данных

Для статистической обработки использовали пакет программ Statistica 10. Анализ выборок с помощью критерия Шапиро–Уилка показал, что распределение выборок соответствовало критериям нормального ($p > 0.05$), что позволило нам использовать дисперсионный анализ (ANOVA). Анализ результатов теста “норковая камера” проводили с использованием однофакторного ANOVA (фактор ГРУППА). При анализе изменений болевой чувствительности применяли ANOVA для повторных измерений (repeated ANOVA) для факторов ГРУППА и ВРЕМЯ ИЗМЕРЕНИЯ. В случае достоверного влияния указанных факторов или их взаимодействия, проводили post hoc анализ с использованием критерия Фишера (Fisher LSD test). Для оценки зависимости между параметрами использовали коэффициент корреляции Пирсона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Данные на графиках представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Влияние предварительного введения семакса и налоксона на последствия острого стресса, вызванного принудительным плаванием в холодной воде

Оценка изменений болевой чувствительности с помощью ANOVA для повторных измерений выявила статистически значимое влияние факторов ГРУППА ($F_{4,72} = 17.3, p < 0.001$) и ВРЕМЯ ИЗМЕРЕНИЯ ($F_{3,216} = 108.36, p < 0.001$), а также взаимодействие данных факторов ($F_{12,216} = 7.5, p < 0.001$). Дальнейший анализ показал статистически значимое увеличение болевого порога во всех группах крыс, перенесших стресс, через 5 и 20 мин после окончания действия стрессора как относительно фоновых значений ($p < 0.005$), так и по сравнению с группой Контроль ($p < 0.01$) (рис. 1). Значимых отличий между группами стрессированных крыс отмечено не было ($p > 0.17$). Таким образом, у всех крыс, перенесших плавание в холодной воде, наблюдалась СВА. Введение семакса в использованных дозах и налоксона не влияло на изменение болевой чувствительности, вызванное острым стрессом.

При оценке поведения крыс в тесте “норковая камера” было зарегистрировано статистически значимое влияние фактора ГРУППА на величину пробега, число стоек и обследованных норок в данном тесте ($F_{4,73} > 12.0, p < 0.001$). Дальнейший анализ показал статистически значимое снижение регистрируемых показателей во всех группах крыс, перенесших стресс, относительно контрольных значений ($p < 0.001$) (рис. 2). Отличий между группами животных, подвергавшихся стрессу, отмечено не было ($p > 0.15$). Следовательно, использованное воздействие вызывало у крыс снижение исследовательского поведения и увеличение тревожности. Введение семакса и налоксона не влияло на стресс-вызванные изменения поведения животных.

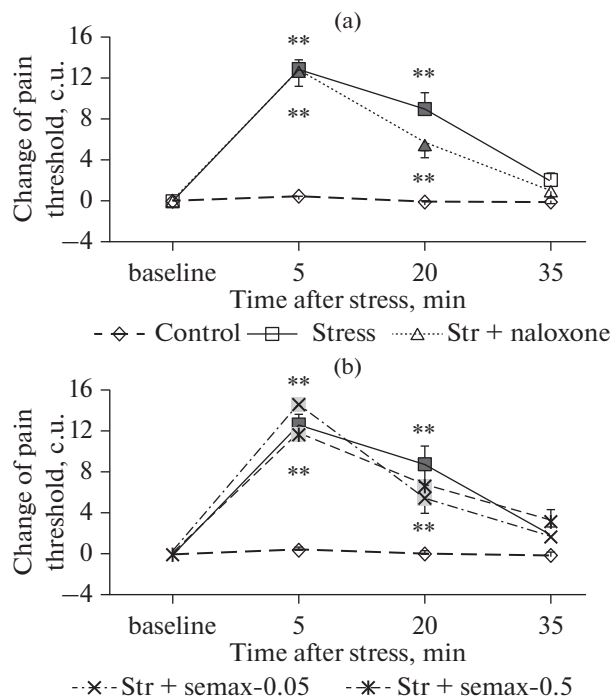


Рис. 1. Влияние налоксона (а) и семакса (б) на изменения болевого порога крыс, вызванные принудительным плаванием в холодной воде (тест сдвливания задней лапы). Налоксон (1 мг/кг) или семакс (0.05 или 0.5 мг/кг) вводили за 15 мин до начала стрессогенного воздействия. По оси абсцисс — время после окончания воздействия (мин), по оси ординат — изменение болевого порога относительно фоновых значений (условные единицы прибора). В каждой группе по 15–16 крыс. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Значимые отличия от фоновых значений отмечены закрашенными символами ($p < 0.005$), значимые отличия от группы Контроль — ** ($p < 0.001$).

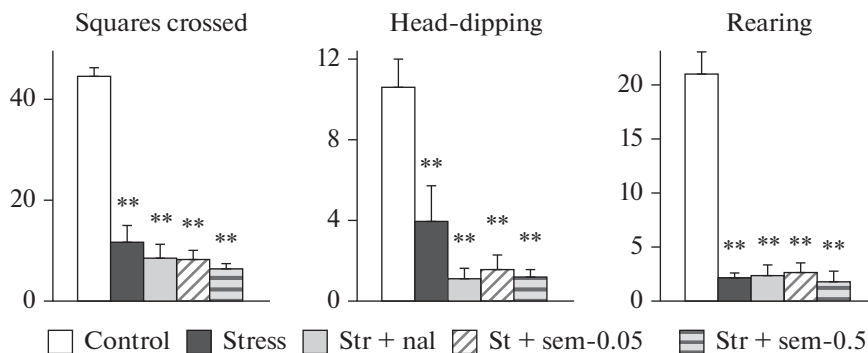


Рис. 2. Влияние налоксона и семакса на изменения поведения крыс в тесте “норковая камера”, вызванные принудительным плаванием в холодной воде (величина пробега, число обследованных норок и стоек). Налоксон (1 мг/кг) или семакс (0.05 или 0.5 мг/кг) вводили за 15 мин до начала стрессогенного воздействия. Через 15 мин после окончания стресса крыс тестировали в “норковой камере”. В каждой группе по 15–16 крыс. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Значимые отличия от группы Контроль отмечены ** ($p < 0.001$).

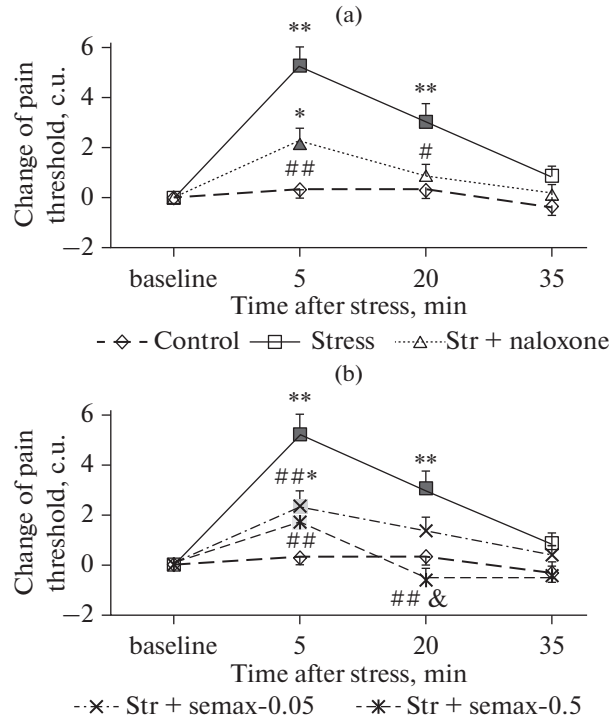


Рис. 3. Влияние налоксона (а) и семакса (б) на изменения болевого порога крыс, вызванные неизбежным электроболевым раздражением (тест сдвливания задней лапы). Налоксон (1 мг/кг) или семакс (0.05 или 0.5 мг/кг) вводили за 15 мин до начала стрессогенного воздействия. По оси абсцисс — время после окончания воздействия (мин), по оси ординат — изменение болевого порога относительно фоновых значений (условные единицы прибора). В каждой группе по 15–16 крыс. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Значимые отличия от фоновых значений отмечены закрашенными символами ($p < 0.01$), значимые отличия от группы Контроль —* ($p < 0.05$) и ** ($p < 0.001$), от группы Стресс — # ($p < 0.05$) и ## ($p < 0.001$), от группы Стресс+семакс-0.05 — & ($p < 0.05$).

2. Влияние предварительного введения налоксона и семакса на последствия острого стресса, вызванного неизбежным электроболевым раздражением

ANOVA для повторных измерений выявил статистически значимое влияние факторов ГРУППА ($F_{4,72} = 10.73, p < 0.001$) и ВРЕМЯ ИЗМЕРЕНИЯ ($F_{5,216} = 31.39, p < 0.001$), а также взаимодействие данных факторов ($F_{12,216} = 3.94, p < 0.001$) для изменений величины болевого порога. Дальнейший анализ показал статистически значимое увеличение болевого порога у крыс группы Стресс через 5 и 20 мин после окончания стрессорного воздействия как относительно фоновых значений ($p < 0.001$), так и относительно соответствующего контроля ($p < 0.001$) (рис. 3).

В группах крыс, получавших перед воздействием инъекции налоксона или семакса в дозе 0.05 мг/кг, через 5 мин после окончания действия стрессора величина болевого порога значимо превышала соответствующие фоновые значения ($p < 0.01$) и контрольные показатели ($p < 0.03$). Через 20 мин после стресса в этих группах значимых отличий болевого порога от фоновых и контрольных значений зарегистрировано не было ($p > 0.30$). В группе Стресс + налоксон отмечалось значимое снижение болевого порога относительно группы Стресс через 5 ($p < 0.001$) и 20 ($p < 0.02$) мин

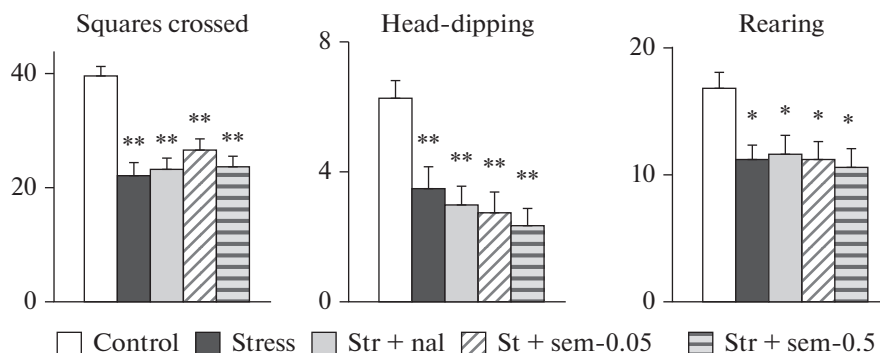


Рис. 4. Влияние налоксона и семакса на изменения поведения крыс в тесте “норковая камера”, вызванные неизбежным электроболевым раздражением (величина пробега, число обследованных норок и стоек). Налоксон (1 мг/кг) или семакс (0.05 или 0.5 мг/кг) вводили за 15 мин до начала стрессогенного воздействия. Через 15 мин после окончания стресса крыс тестировали в “норковой камере”. В каждой группе по 15–16 крыс. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Значимые отличия от группы Контроль отмечены * ($p < 0.05$) и ** ($p < 0.001$).

после воздействия. У крыс группы Стресс + семакс-0.05 величина этого показателя статистически значимо отличалась от группы Стресс через 5 мин после воздействия ($p < 0.001$), через 20 мин значимых отличий между этими группами отмечено не было ($p = 0.11$). В группе Стресс + семакс-0.5 не было зарегистрировано значимых отличий болевого порога от фоновых и контрольных значений через 5 и 20 мин после стрессорного воздействия ($p > 0.12$). При этом наблюдалось статистически значимое снижение этого показателя через 5 и 20 мин после воздействия относительно соответствующих значений в группе Стресс ($p < 0.001$).

Значимых отличий между группой Стресс + налоксон и группами крыс, получавших семакс перед стрессогенным воздействием, зарегистрировано не было ($p > 0.28$). В группе Стресс + семакс-0.5 величина болевого порога через 20 мин после воздействия была значимо ниже, чем в группе Стресс + семакс-0.05 ($p < 0.03$). Таким образом, использованное электроболевое раздражение приводило к развитию СВА. Предварительное введение налоксона или семакса в использованных дозах ослабляло анальгезию, вызванную данным воздействием. Эффекты семакса в дозе 0.5 мг/кг были более выражены.

Изучение поведения крыс в тесте “норковая камера” выявило статистически значимое влияние фактора ГРУППА на величину пробега, число обследованных норок и стоек ($F_{4,73} > 3.58$, $p < 0.01$). Дальнейший анализ показал достоверное снижение этих показателей в группах крыс, перенесших электроболевое раздражение, относительно контрольных значений ($p < 0.01$) (рис. 4). Значимых отличий между группами стрессированных крыс зарегистрировано не было ($p > 0.35$). Следовательно, введение семакса в использованных дозах или налоксона не влияло на изменения поведения животных, вызванные неизбежным электроболевым раздражением.

3. Влияние семакса на последствия острого стресса, вызванного неизбежным электроболевым раздражением, при введении пептида после окончания стрессорного воздействия

В данной серии экспериментов семакс вводили через 5 мин после окончания действия стрессора, поэтому измерения болевой чувствительности проводили через 10, 25 и 40 мин, а тест “норковая камера” — через 20 мин после воздействия.

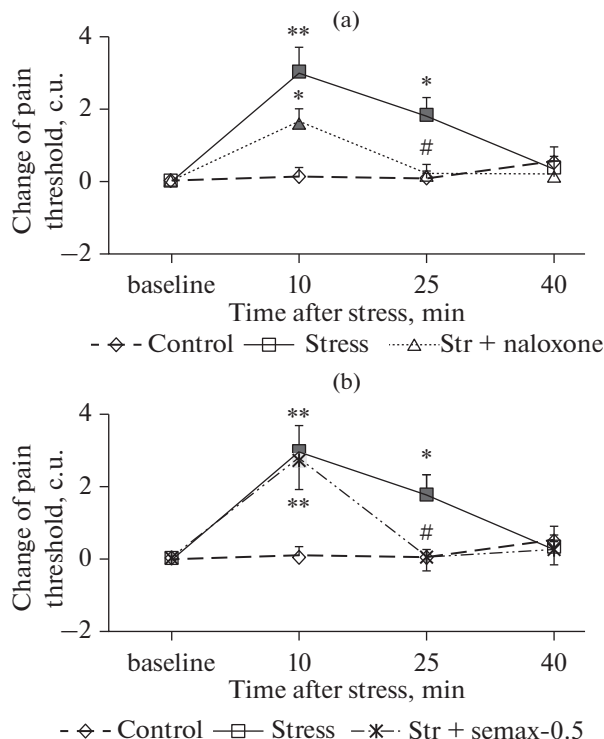


Рис. 5. Влияние налоксона (а) и семакса (б) на изменения болевого порога крыс, вызванные неизбежным электроболевым раздражением (тест сдавливания задней лапы). Налоксон (1 мг/кг) вводили за 15 мин до начала стрессогенного воздействия, семакс (0.5 мг/кг) — через 5 мин после окончания воздействия. По оси абсцисс — время после окончания воздействия (мин), по оси ординат — изменение болевого порога относительно фоновых значений (условные единицы прибора). В каждой группе по 14–15 крыс. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Значимые отличия от фоновых значений отмечены закрашенными символами ($p < 0.03$), значимые отличия от группы Контроль — * ($p < 0.05$) и ** ($p < 0.001$), от группы Стресс — # ($p < 0.05$) и ## ($p < 0.001$).

Оценка изменений болевой чувствительности с помощью ANOVA для повторных измерений выявила статистически значимое влияние факторов ГРУППА ($F_{3,54} = 4.06$, $p = 0.01$) и ВРЕМЯ ИЗМЕРЕНИЯ ($F_{3,162} = 10.77$, $p < 0.001$), а также взаимодействие данных факторов ($F_{9,162} = 2.16$, $p = 0.027$). Дальнейший анализ показал достоверное увеличение болевого порога у крыс группы Стресс через 10 и 25 мин после окончания стрессорного воздействия как относительно фоновых значений ($p < 0.001$ и $p = 0.01$ соответственно), так и относительно группы Контроль ($p < 0.001$ и $p = 0.01$ соответственно) (рис. 5). В группе Стресс + налоксон через 10 мин после окончания действия стрессора величина болевого порога значимо превышала соответствующие фоновые и контрольные значения ($p < 0.04$), а через 25 мин после стресса значимых отличий от фона и группы Контроль отмечено не было ($p > 0.80$). В группе крыс, получавших инъекцию налоксона, регистрируемый показатель через 10 мин после воздействия отличался от соответствующих значений в группе Стресс на уровне тенденции ($p = 0.06$), а через 25 мин это отличие было статистически значимым ($p = 0.02$).

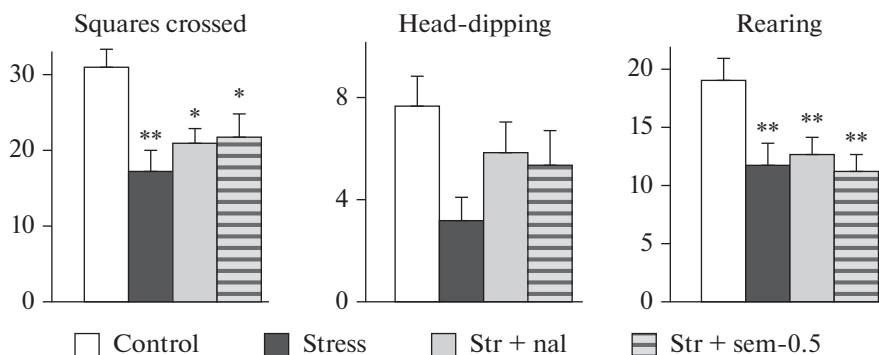


Рис. 6. Влияние налоксона и семакса на изменения поведения крыс в тесте “норковая камера”, вызванные неизбежным электроболевым раздражением (величина пробега, число обследованных норок и стоек). Налоксон (1 мг/кг) вводили за 15 мин до начала стрессогенного воздействия, семакс (0.5 мг/кг) — через 5 мин после окончания воздействия. Через 20 мин после окончания стресса крыс тестировали в “норковой камере”. В каждой группе по 14–15 крыс. Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Значимые отличия от группы Контроль отмечены * ($p < 0.05$) и ** ($p < 0.001$).

В группе Стресс + семакс-0.5 через 10 мин после стрессогенного воздействия (через 5 мин после инъекции пептида) величина болевого порога статистически значимо превышала фоновые и контрольные значения ($p < 0.001$), отличий от группы Стресс отмечено не было ($p = 0.94$). Однако через 25 мин после стресса величина болевого порога в этой группе от фоновых значений и группы Контроль не отличалась ($p > 0.92$) и была достоверно ниже, чем в группе Стресс ($p < 0.01$). Значимых отличий между группами Стресс–налоксон и Стресс–семакс-0.5 зарегистрировано не было, но при первом измерении величина болевого порога в группе Стресс–семакс-0.5 превышала соответствующие значения в группе Стресс–налоксон на уровне тенденции ($p = 0.07$).

Таким образом, как и во второй серии экспериментов, электроболевое раздражение приводило к развитию СВА, которая ослаблялась предварительным введением налоксона. Введение семакса в дозе 0.5 мг/кг через 5 мин после окончания стрессорного воздействия не оказывало влияния на величину болевого порога при первом измерении (через 5 мин после инъекции), но приводило к значимому уменьшению СВА через 20 мин после введения препарата.

Изучение поведения крыс в тесте “норковая камера” выявило статистически значимое влияние фактора ГРУППА на величину пробега и число стоек ($F_{3,55} > 4.7$, $p < 0.005$), а также влияние данного фактора на число обследованных норок на уровне тенденции ($F_{3,55} = 2.46$, $p = 0.07$). В группах крыс, перенесших стресс, отмечалось достоверное снижение величины пробега и числа стоек по сравнению с группой контроль ($p < 0.03$) (рис. 6).

Значимых отличий между группами стрессированных крыс зарегистрировано не было ($p > 0.20$). Следовательно, как и во второй серии опытов, электроболевое раздражение вызывало у крыс снижение исследовательского поведения и увеличение тревожности. Ни предварительное введение налоксона, ни введение семакса после стрессогенного воздействия не оказывало значимого влияния на стресс-вызванные изменения поведения животных.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Реакция организма на острое стрессогенное воздействие включает в себя широкий спектр физиологических и поведенческих изменений, в том числе увеличение тревожности и снижение болевой чувствительности [2]. Согласно данным литературы, специфические нейромедиаторные системы, определяющие характер стрессорного ответа, зависят от природы, продолжительности и интенсивности стрессирующего воздействия [30]. Показано, что анальгезия, вызванная принудительным плаванием в теплой воде или прерывистым электрическим раздражением конечности, блокируется предварительным введением антагонистов опиоидных рецепторов, однако при увеличении интенсивности и/или продолжительности стрессорного воздействия включаются неопиоидные механизмы СВА [31–34]. В представленной работе нами были использованы две экспериментальные модели острого стресса – принудительное плавание в холодной воде и неизбежное прерывистое электроболевое раздражение. Т.е., были использованы стрессоры, воздействие которых, по данным литературы, должно приводить к развитию неопиоидной и опиоидной формы СВА соответственно [35, 36].

Воздействие использованных стрессоров приводило к увеличению порога реакции на болевое раздражение в тесте “сдавливание задней лапы” через 5 и 20 мин после окончания стресса. У крыс, перенесших плавание в холодной воде, стресс-вызванные изменения болевого порога были более выражены, чем у животных, подвергавшихся электроболевному раздражению. Плавание в холодной воде приводило к снижению температуры тела животного – гипотермии, которая играет важную роль в развитии СВА [37]. В модели принудительного плавания в холодной воде анальгезия развивается в результате взаимодействия двух факторов – эмоционального стресса, вызванного процедурой плавания, и термического стресса, связанного с воздействием низкой температуры [37, 38]. Плавание в холодной воде является стрессором более высокой интенсивности по сравнению с использованным прерывистым электроболевым раздражением, поэтому влияние этого стрессора на величину болевого порога и поведение крыс более выражено.

У крыс, перенесших острый стресс, наблюдалось снижение величины пробега, числа стоек и обследованных норок у крыс в тесте “норковая камера”. Такие изменения параметров поведения животных свидетельствуют об уменьшении исследовательской активности. Показатели исследовательского поведения тесно связаны с изменениями уровня тревожности и эмоциональности. Ранее было показано, что снижение числа стоек и обследованных норок в тесте “норковая камера” отражает возрастание уровня тревожности [39–41]. Полученные нами результаты свидетельствуют о развитии анальгезии, снижении исследовательского поведения и увеличении уровня тревожности в ответ на действие использованных стрессоров, что согласуется с данными литературы [2, 4, 13].

Многочисленные данные свидетельствуют об участии эндогенной опиоидной системы в регуляции стрессорного ответа [13, 42]. Для оценки вовлеченности опиоидной системы в зарегистрированные эффекты использованных стрессогенных воздействий нами исследовалось влияние антагониста опиоидных рецепторов налоксона на эффекты острого стресса. В первой серии экспериментов предварительное введение налоксона не оказывало влияния на изменения поведения и болевой чувствительности, вызванные принудительным плаванием в холодной воде. При этом в группе крыс, перенесших острый стресс, была зарегистрирована статистически значимая отрицательная корреляция между величиной показателей поведения в “норковой камере” и изменениями болевого порога относительно фоновых значений ($-0.83 < r < -0.67$; $p < 0.03$). Отсутствие влияния налоксона на эффекты стрессорного воздействия в данной модели свидетельствует о том, что

принудительное плавание в холодной воде приводит к развитию неопиоидной формы СВА. Налоксон также не оказывал влияния на поведение крыс, перенесших острый стресс, следовательно, нарушения поведения, отмеченные в этой серии опытов, также не связаны с опиоидной системой организма. Наличие значимой корреляции между изменениями болевой чувствительности и поведения животных, вызванными использованным воздействием, указывает на общие механизмы, лежащие в основе этих эффектов стресса.

Во второй и третьей сериях экспериментов в качестве стрессорного воздействия было использовано неизбежное прерывистое электроболевое раздражение. В этом случае предварительное введение налоксона приводило к статистически значимому ослаблению СВА, но не блокировало ее полностью. Влияния на стресс-вызванную тревожность налоксон не оказывал. Оценка зависимости между изменениями болевого порога относительно фоновых значений и параметрами поведения крыс в “норковой камере” не выявила значимой корреляции между этими показателями ($0.12 < r < 0.39$; $p > 0.10$). Следовательно, использованное нами стрессогенное воздействие вызывает смешанную форму СВА, содержащую опиоидный компонент. Отсутствие корреляционной зависимости между стресс-вызванными изменениями поведения и болевой чувствительности может указывать на различные механизмы, определяющие данные изменения.

Оценка влияния семакса на уровень болевой чувствительности животных, перенесших стресс, показала, что введение пептида не влияет на величину болевого порога в модели принудительного плавания в холодной воде, но приводит к уменьшению выраженности СВА в модели прерывистого электроболевого раздражения. При введении семакса за 15 мин до начала стрессорного воздействия значимое снижение болевого порога отмечалось через 5 и 20 мин после окончания раздражения (через 30–45 мин после инъекции). При введении пептида после стресса, значимое снижение болевого порога отмечалось только через 25 мин после раздражения (через 20 мин после введения пептида). Таким образом, семакс оказывает влияние на СВА как при введении до, так и после электроболевого раздражения, однако для развития эффекта пептида необходимо не менее 20 мин. Способность налоксона ослаблять СВА в модели электроболевого раздражения указывает на участие эндогенной опиоидной системы в развитии анальгезии. Ранее нами было показано, что предварительное введение семакса уменьшает анальгезию в модели принудительного плавания при температуре 28°C. Введение налоксона также ослабляло СВА, зарегистрированную в этой модели [29]. Способность семакса уменьшать выраженность СВА только в случае анальгезии, чувствительной к налоксону, свидетельствует о влиянии пептида на опиоидную составляющую СВА. Однако поскольку в обеих моделях наблюдалась смешанная форма СВА, нельзя полностью исключить возможность участия других медиаторных систем. На основании полученных данных и проведенных ранее исследований можно предположить, что семакс блокирует опиоидную составляющую анальгезии, вызванной острым стрессогенным воздействием. Влияние семакса на СВА определяется механизмом наблюдаемой анальгезии, а не природой использованного стрессора.

Многочисленные исследования свидетельствуют о функциональном взаимодействии меланокортиновой и опиоидной систем организма при модуляции передачи болевого сигнала [16]. Показано, что введение α -МСГ или АКТГ ослабляет анальгезию, вызванную как эндогенными (β -эндорфин), так и экзогенными (морфин) опиоидами [43, 44]. Меланокортиновые и опиоидные рецепторы демонстрируют сходное распределение в спинном мозге и различных областях головного мозга, что обеспечивает анатомическую основу для взаимодействия этих систем [45, 46]. Так, показано, что в нейронах околосинаптического серого вещества могут экспрессироваться одновременно μ -опиоидные рецепторы и MC4R. Вероятно,

колокализация этих рецепторов обеспечивает антиопиоидные эффекты МС [16]. Можно предположить, что ослабление СВА под действием семакса также может быть связано с его антиопиоидным действием.

Изучение влияния семакса на поведение крыс, перенесших острое стрессорное воздействие, показало, что введение пептида в исследованных дозах перед началом или после завершения действия стрессора не влияет на изменения поведения, зарегистрированные через 15–20 мин после стресса, как в модели принудительного плавания в холодной воде, так и в модели электроболевого раздражения. Ранее нами было показано, что предварительное введение семакса также не влияло на изменения поведения крыс через 20–30 мин после стресса в моделях принудительного плавания при температуре 28°C или однократной иммобилизации [28, 29]. Проведенные исследования позволяют заключить, что семакс в исследованных дозах не влияет на кратковременные изменения поведения крыс, вызванные острыми стрессогенными воздействиями различной природы.

Как уже указывалось, последовательность АКТГ_{15–18} необходима для связывания молекулы АКТГ с рецептором МС2R и последующей стимуляции выброса кортикостерона корой надпочечников [18]. Тетрапептид KKRR, соответствующий этой последовательности, связывается с рецептором МС2R, не активирует этот рецептор и препятствует связыванию с ним целой молекулы гормона [47]. Ранее нами были изучены эффекты пептида АКТГ_{15–18} и его аналога АКТГ_{15–18}PGP в модели неизбежного электроболевого раздражения. Было показано, что предварительное введение этих пептидов снижает выброс кортикостерона в ответ на стрессирующее воздействие, уменьшает тревожность, вызванную острым стрессом, но не влияет на выраженность СВА [48]. Сопоставление эффектов АКТГ_{15–18} и семакса в модели острого стресса подтверждает важную роль кортикостерона в регуляции краткосрочных изменений поведения, вызванных прерывистым электроболевым воздействием, и участие эндогенной опиоидной системы в развитии СВА в данной модели.

На основании полученных данных можно заключить, что введение семакса в использованных дозах приводит к ослаблению опиоидной составляющей СВА, но не влияет на краткосрочные изменения поведения, вызванные острым стрессом. Известно, что острый стресс вызывает как кратковременные, так и отдаленные поведенческие, нейрохимические и структурные изменения, в основе которых могут лежать различные механизмы [5, 49]. Продолжительность долговременных изменений, вызванных острым стрессом, составляет от нескольких часов до нескольких суток [9, 50]. Ранее нами было показано, что предварительное введение семакса ослабляет изменения поведения крыс, зарегистрированные через 4 ч после окончания острого иммобилизационного стресса [51]. Можно предположить, что семакс способен ослаблять долговременные последствия острого стрессогенного воздействия, но не влияет на кратковременные изменения поведения, вызванные острым стрессом. Однако для выяснения влияния семакса на долговременные последствия острого стресса необходимы дальнейшие исследования.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование проведено с соблюдением биоэтических норм обращения с экспериментальными животными в соответствии с “Правилами надлежащей лабораторной практики” (Приказ МЗ РФ № 199 от 01.04.2016) и требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента от 22.09.2010.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 19-14-00268 П).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование экспериментов (Н.Г.Л., А.А.К., Л.В.Д., С.А.Л., Н.Ф.М.), сбор данных (Н.Ю.Г., Д.М.М., Д.А.В., Е.А.С., Л.А.А.), обработка данных (Н.Ю.Г., Д.М.М., Д.А.В., Е.А.С., Н.Г.Л.), написание и редактирование манускрипта (Н.Г.Л., Н.Ю.Г., Д.М.М., Е.А.С.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wilder RL (1995) Neuroendocrine-immune system interactions and autoimmunity. *Annu Rev Immunol* 13: 307–338.
<https://doi.org/10.1146/annurev.iy.13.040195.001515>
2. Finn DP (2010) Endocannabinoid-mediated modulation of stress responses: physiological and pathophysiological significance. *Immunobiology* 215(8): 629–646.
<https://doi.org/10.1016/j.imbio.2009.05.011>
3. Ghasemzadeh Z, Rezayof A (2015) Ventral hippocampal nicotinic acetylcholine receptors mediate stress-induced analgesia in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 56: 235–242.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.09.008>
4. Cecconello AL, Torres IL, Oliveira C, Zanini P, Niche G, Ribeiro MF (2016) DHEA administration modulates stress-induced analgesia in rats. *Physiol Behav* 157: 231–236.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.02.004>
5. Tillage RP, Foster SL, Lustberg D, Liles LC, McCann KE, Weinshenker D (2021) Co-released norepinephrine and galanin act on different timescales to promote stress-induced anxiety-like behavior. *Neuropsychopharmacology* 46(8): 1535–1543.
<https://doi.org/10.1038/s41386-021-01011-8>
6. Floriou-Servou A, von Ziegler L, Waag R, Schläppi C, Germain PL, Bohacek J (2021) The Acute Stress Response in the Multiomic Era. *Biol Psychiatry* 89(12): 1116–1126.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.12.031>
7. Гуляева НВ (2022) Нейроэндокринный контроль гиперглутаматергических состояний при патологиях мозга: влияние глюкокортикоидов. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 108 (9): 1077–1093. [Gulyaeva NV (2022) Neuroendocrine control of hyperglutamatergic states in brain pathologies: the effects of glucocorticoids. *Russ J Physiol* 108(9): 1077–1093. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0869813922090102>
8. O'Connor TM, O'Halloran DJ, Shanahan F (2000) The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: from molecule to melancholia. *QJM* 93(6): 323–333.
<https://doi.org/10.1093/qjmed/93.6.323>
9. Busnardo C, Crestani CC, Scopinho AA, Packard BA, Resstel LBM, Correa FMA, Herman JP (2019) Nitrgergic neurotransmission in the paraventricular nucleus of the hypothalamus modulates autonomic, neuroendocrine and behavioral responses to acute restraint stress in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 90: 16–27.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.11.001>
10. Tang W, Zhou D, Wang S, Hao S, Wang X, Helmy M, Zhu J, Wang H (2021) CRH Neurons in the Laterodorsal Tegmentum Mediate Acute Stress-induced Anxiety. *Neurosci Bull* 37(7): 999–1004.
<https://doi.org/10.1007/s12264-021-00684-x>
11. Millan MJ, Brocco M (2003) The Vogel conflict test: procedural aspects, gamma-aminobutyric acid, glutamate and monoamines. *Eur J Pharmacol* 463(1–3): 67–96.
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(03\)01275-5](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01275-5)
12. McCall JG, Al-Hasani R, Siuda ER, Hong DY, Norris AJ, Ford CP, Bruchas MR (2015) CRH Engagement of the Locus Coeruleus Noradrenergic System Mediates Stress-Induced Anxiety. *Neuron* 87(3): 605–620.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.07.002>
13. al'Absi M, Nakajima M, Bruehl S (2021) Stress and pain: modality-specific opioid mediation of stress-induced analgesia. *J Neural Transm (Vienna)* 128(9): 1397–1407.
<https://doi.org/10.1007/s00702-021-02401-4>
14. Gantz I, Fong TM (2003) The melanocortin system. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284(3): E468–E474.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00434.2002>

15. Yang Y, Harmon CM (2020) Molecular determinants of ACTH receptor for ligand selectivity. *Mol Cell Endocrinol* 503: 110688. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110688>
16. Sharfman N, Gilpin NW (2021) The Role of Melanocortin Plasticity in Pain-Related Outcomes After Alcohol Exposure. *Front Psychiatry* 12: 764720. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.764720>
17. Fridmanis D, Roga A, Klovins J (2017) ACTH Receptor (MC2R) Specificity: What Do We Know About Underlying Molecular Mechanisms? *Front Endocrinol (Lausanne)* 8: 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00013>
18. Gallo-Payet N, Martinez A, Lacroix A (2017) Editorial: ACTH Action in the Adrenal Cortex: From Molecular Biology to Pathophysiology. *Front Endocrinol (Lausanne)* 8: 101. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00101>
19. Yamano Y, Yoshioka M, Toda Y, Oshida Y, Chaki S, Hamamoto K, Morishima I (2004) Regulation of CRF, POMC and MC4R gene expression after electrical foot shock stress in the rat amygdala and hypothalamus. *J Vet Med Sci* 66(11): 1323–1327. <https://doi.org/10.1292/jvms.66.1323>
20. Chaki S, Okuyama S (2005) Involvement of melanocortin-4 receptor in anxiety and depression. *Peptides* 26(10): 1952–1964. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.11.029>
21. Chaki S, Ogawa S, Toda Y, Funakoshi T, Okuyama S (2003) Involvement of the melanocortin MC4 receptor in stress-related behavior in rodents. *Eur J Pharmacol* 474(1): 95–101. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(03\)02033-8](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)02033-8)
22. Shimazaki T, Chaki S (2005) Anxiolytic-like effect of a selective and non-peptidergic melanocortin 4 receptor antagonist, MCL0129, in a social interaction test. *Pharmacol Biochem Behav* 80(3): 395–400. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.11.014>
23. Ashmarin IP, Nezavibatko VN, Levitskaya NG, Koshelev VB, Kamensky AA (1995) Design and investigation of an ACTH(4–10) analogue lacking D-amino acids and hydrophobic radicals. *Neurosci Res Commun* 16(2): 105–112.
24. Ашмарин ИП, Незавиба́тко ВН, Мясоедов НФ, Каменский АА, Гривенников ИА, Пономарева-Степная МА, Андреева ЛА, Каплан АЯ, Кошелев ВБ, Рясина ТВ (1997) Ноотропный аналог адrenoкортикотропина 4–10 – семакс (15-летний опыт разработки и изучения). *Журн высш нерв деятелън им ИП Павлова* 47: 420–430. [Asmarin IP, Nezavibat'ko VN, Miasoedov NF, Kamenskii AA, Grivennikov IA, Ponomareva-Stepnaia MA, Andreeva LA, Kaplan AI, Koshelev VB, Riasina TV (1997) A nootropic adrenocorticotropin analog 4–10 – semax (15 years experience in its design and study). *Zhurn Vyss Nervn Deiatelnosti im IP Pavlova* 47: 420–430. (In Russ)].
25. Виленский ДА, Левицкая НГ, Андреева ЛА, Алфеева ЛЮ, Каменский АА, Мясоедов НФ (2007) Влияние хронического введения семакса на исследовательскую активность и эмоциональное состояние белых крыс. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 93(6): 661–669. [Vilenskii DA, Levitskaia NG, Andreeva LA, Alfeeva LY, Kamenskii AA, Miasoedov NF (2007) Effects of chronic Semax administration on exploratory activity and emotional reaction in white rats. *Russ J Physiol* 93(6): 661–669. (In Russ)].
26. Yatsenko KA, Glazova NYu, Inozemtseva LS, Andreeva LA, Kamensky AA, Grivennikov IA, Levitskaya NG, Dolotov OV, Myasoedov NF (2013) Heptapeptide Semax Attenuates the Effects of Chronic Unpredictable Stress in Rats. *Dokl Biol Sci* 453: 353–357. <https://doi.org/10.1134/S0012496613060161>
27. Levitskaya NG, Vilenskii DA, Sebentsova EA, Andreeva LA, Kamensky AA, Myasoedov NF (2010) Influence of semax on the emotional state of white rats in the norm and against the background of cholecystokinin-tetrapeptide action. *Biol Bull* 37(2): 186–192. <https://doi.org/10.1134/S1062359010020147>
28. Glazova NYu, Sebentsova EA, Manchenko DM, Andreeva LA, Dergunova LV, Levitskaya NG, Limborska SA, Myasoedov NF (2018) The Protective Effect of Semax in a Model of Stress-induced Impairment of Memory and Behavior in White Rats. *Biol Bull* 45(4): 394–399. <https://doi.org/10.1134/S1062359018040040>
29. Ivanova DM, Vilenskii DA, Levitskaya NG, Andreeva LA, Alfeeva LY, Kamenskii AA, Miasoedov NF (2006) Effect of Semax on changes in pain sensitivity and behavior of animals induced by forced swimming. *Dokl Biol Sci* 407: 123–127. <https://doi.org/10.1134/s0012496606020037>
30. Atwal N, Winters BL, Vaughan CW (2020) Endogenous cannabinoid modulation of restraint stress-induced analgesia in thermal nociception. *J Neurochem* 152(1): 92–102. <https://doi.org/10.1111/jnc.14884>
31. Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC (1980) Opioid and nonopioid mechanisms of stress analgesia. *Science* 208(4444): 623–625. <https://doi.org/10.1126/science.7367889>
32. Mogil JS, Sternberg WF, Balian H, Liebeskind JC, Sadowski B (1996) Opioid and nonopioid swim stress-induced analgesia: a parametric analysis in mice. *Physiol Behav* 59(1): 123–132. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)02073-x](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)02073-x)

33. Hohmann AG, Suplita RL, Bolton NM, Neely MH, Fegley D, Mangieri R, Krey JF, Walker JM, Holmes PV, Crystal JD, Duranti A, Tontini A, Mor M, Tarzia G, Piomelli D (2005) An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. *Nature* 435(7045): 1108–1112.
<https://doi.org/10.1038/nature03658>
34. Lafrance M, Roussy G, Belleville K, Maeno H, Beaudet N, Wada K, Sarret P (2010) Involvement of NTS2 receptors in stress-induced analgesia. *Neuroscience* 166(2): 639–652.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.12.042>
35. Terman GW, Shavit Y, Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC (1984) Intrinsic mechanisms of pain inhibition: activation by stress. *Science* 226(4680): 1270–1277.
<https://doi.org/10.1126/science.6505691>
36. Terman GW, Morgan MJ, Liebeskind JC (1986) Opioid and non-opioid stress analgesia from cold water swim: importance of stress severity. *Brain Res* 372(1): 167–171.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)91472-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)91472-1)
37. Sadowski B, Konarzewski M (1999) Analgesia in selectively bred mice exposed to cold in helium/oxygen atmosphere. *Physiol Behav* 66(1): 145–151.
[https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(98\)00282-0](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(98)00282-0)
38. Leapo IB, Konarzewski M, Sadowski B (2003) Analgesia induced by swim stress: interaction between analgesic and thermoregulatory mechanisms. *Pflugers Arch* 446(4): 463–469.
<https://doi.org/10.1007/s00424-003-1060-9>
39. Takeda H, Tsuji M, Matsumiya T (1998) Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. *Eur J Pharmacol* 350(1): 21–29.
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(98\)00223-4](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(98)00223-4)
40. Abbasi-Habashi S, Ghasemzadeh Z, Rezayof A (2020) Morphine improved stress-induced amnesia and anxiety through interacting with the ventral hippocampal endocannabinoid system in rats. *Brain Res Bull* 164: 407–414.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.09.002>
41. Farzafard P, Rezayof A, Alijanpour S (2022) Ventral hippocampal NMDA receptors mediate the effects of nicotine on stress-induced anxiety/exploratory behaviors in rats. *Neurosci Lett* 780: 136649.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136649>
42. Bershad AK, Miller MA, Norman GJ, de Wit H (2018) Effects of opioid- and non-opioid analgesics on responses to psychosocial stress in humans. *Horm Behav* 102: 41–47.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.04.009>
43. Smock T, Fields HL (1981) ACTH1-24 blocks opiate-induced analgesia in the rat. *Brain Res* 212(1): 202–206.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90052-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90052-4)
44. Contreras PC, Takemori AE (1984) Antagonism of morphine-induced analgesia, tolerance and dependence by alpha-melanocyte-stimulating hormone. *J Pharmacol Exp Ther* 229(1): 21–26.
45. Ercil NE, Galici R, Kesterson RA (2005) HS014, a selective melanocortin-4 (MC4) receptor antagonist, modulates the behavioral effects of morphine in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 180(2): 279–285.
<https://doi.org/10.1007/s00213-005-2166-x>
46. Han DJ, He ZG, Yang H (2018) Melanocortin-4 receptor in subthalamic nucleus is involved in the modulation of nociception. *Am J Clin Exp Immunol* 7(4): 76–80.
47. Kovalitskaya YA, Zolotarev YA, Kolobov AA, Sadovnikov VB, Yurovsky VV, Navolotskaya EV (2007) Interaction of ACTH synthetic fragments with rat adrenal cortex membranes. *J Pept Sci* 13(8): 513–518.
<https://doi.org/10.1002/psc.873>
48. Манченко ДМ, Глазова НЮ, Себенцова ЕА, Андреева ЛА, Долотов ОВ, Каменский АА, Мясоедов НФ, Левицкая НГ (2022) Влияние фрагмента АКГГ15-18 и его аналога АКГГ15-18-Про-Gly-Про на последствия острого стрессового воздействия. Журн высш нерв деятелън им ИП Павлова 72(4): 561–575. [Manchenko DM, Glazova NYu, Sebensova EA, Andreeva LA, Dolotov OV, Kamensky AA, Myasoedov NF, Levitskaya NG (2022) Effects of fragment ACTH15-18 and its analog ACTH15-18-PGP on the consequences of the acute stress exposure. *Zh Vyss Nervn Deiatelnosti im IP Pavlova* 72: 561–575. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0044467722040074>
49. Musazzi L, Tornese P, Sala N, Popoli M (2018) What Acute Stress Protocols Can Tell Us About PTSD and Stress-Related Neuropsychiatric Disorders. *Front Pharmacol* 9: 758.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00758>
50. Chakraborty P, Chattarji S (2019) Interventions after acute stress prevent its delayed effects on the amygdala. *Neurobiol Stress* 10: 100168.
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100168>
51. Filippenkov IB, Stavchansky VV, Glazova NY, Sebensova EA, Remizova JA, Valieva LV, Levitskaya NG, Myasoedov NF, Limborska SA, Dergunova LV (2021) Antistress action of melanocortin derivatives associated with correction of gene expression patterns in the hippocampus of male rats following acute stress. *Int J Mol Sci* 22(18): 10054.
<https://doi.org/10.3390/ijms221810054>

Effects of Semax in the Models of Acute Stress

**N. Yu. Glazova^{a, b}, D. M. Manchenko^a, D. A. Vilensky^{a, c}, E. A. Sebentsova^{a, b},
L. A. Andreeva^b, A. A. Kamensky^{a, b}, L. V. Dergunova^b, S. A. Limborska^b,
N. F. Myasoedov^b, and N. G. Levitskaya^{a, b, *}**

^a *Lomonosov Moscow State University, Biology faculty, Moscow, Russia*

^b *Institute of Molecular Genetics of National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow, Russia*

^c *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow, Russia*

**e-mail: nlevitskaya@gmail.com*

Acute stress exposure causes a cascade of neurochemical reactions, leading, in particular, to a change in behavior and increased tolerance to pain in humans and animals. ACTH/MSH-like peptides play an important role in regulating the body's response to stressful exposures. The aim of the present study was to assess the effects of the ACTH_{4–10} analogue heptapeptide Semax in various models of acute stress. The effect of intraperitoneal Semax administration at doses of 0.05 and 0.5 mg/kg on changes in behavior and pain sensitivity of Wistar rats in models of inescapable intermittent foot shock stress and forced cold-water swim stress was investigated. To assess the involvement of the endogenous opioid system in the effects of stress, an impact of pretreatment with opioid receptor antagonist naloxone (1 mg/kg) was studied. The stressors used led to an increase in the pain threshold in the paw-pressure test, which indicates the development of stress-induced analgesia (SIA). In addition, rats exposed to stress had an decrease in exploratory behavior and an increase in the anxiety-like behavior in the hole board test. Both Semax and naloxone attenuated SIA in the model of inescapable foot shock stress, but did not affect the value of the pain threshold in the model of forced cold swim stress. Both studied drugs did not affect the behavior of rats in the models of acute stress used. It can be concluded that Semax blocks the opioid form of stress-induced analgesia, but does not affect the behavioral alterations in rats exposed to acute stress.

Keywords: acute stress, Semax, Naloxone, foot shock stress, cold-water swim stress, anxiety, pain sensitivity