

*На правах рукописи*

МАРТЮШЕВА АННА СЕРГЕЕВНА

**ВОЗРАСТНЫЕ И ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ У КРЫС ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА**

1.5.5 – физиология человека и животных

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина».

**Научный руководитель:** член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук, профессор РАН,  
Заслуженный деятель науки Российской Федерации

**Перцов Сергей Сергеевич**

**Официальные оппоненты:** член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук, профессор,  
главный научный сотрудник лаборатории  
лекарственной токсикологии отдела лекарственной  
токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени  
В.В. Закусова»

**Дурнев Андрей Дмитриевич**

доктор биологических наук,  
ведущий научный сотрудник лаборатории общей  
патологии нервной системы ФГБНУ «НИИ общей  
патологии и патофизиологии»

**Хлебникова Надежда Николаевна**

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение  
науки Институт биологии развития имени Н.К.  
Кольцова РАН

Защита диссертации состоится «22» сентября 2023 года в 11<sup>30</sup> часов на заседании  
Диссертационного совета 24.1.179.01 при ФГБНУ «НИИНФ им. П.К. Анохина» по  
адресу: 125009, г. Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в Федеральном государственном бюджетном  
научном учреждении «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии  
имени П.К. Анохина» и на сайте <http://nphys.ru/>. Отзывы на автореферат в двух  
экземплярах, заверенные печатью учреждения, просьба направлять по адресу: 125315,  
г. Москва, ул. Балтийская, д. 8.

Автореферат разослан «\_\_\_» июля 2023 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета,  
доктор медицинских наук



Абрамова А.Ю.

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность исследования**

Одним из наиболее актуальных направлений медико-биологической науки является изучение влияния материнского стресса на развитие плода, физическое и психическое здоровья потомства. Доказано, что внутриутробный стресс, вызванный ростом уровня глюкокортикоидов в материнском организме при беременности, приводит к изменениям физиологических, биохимических и других показателей у потомства (Kim Y.O. *et al.*, 2015; Lee H. *et al.*, 2015, 2018; Goldstein J.M., 2019). Функциональные нарушения в организме беременной матери, возникающие при стрессорных нагрузках, отражаются на состоянии плода посредством гуморальных механизмов через систему «мать – плод – плацента». Таким образом, изменения жизнедеятельности плода в данных условиях во многом связаны с реакцией материнского организма на действие стрессогенного фактора (Салехов С.А., 2020).

В экспериментальных работах обнаружено, что после пренатального стресса у млекопитающих отмечаются изменения в уровне гормонов и характере метаболизма нейромедиаторов (Кулешова О.Н. и др., 2021; Shallie P.D., Naicker T., 2019), а также сдвиги окислительного статуса тканей в сторону прооксидантного звена (Смоленский И.В., 2018; Zheng A. *et al.*, 2015). Это может проявляться в нарушении различных форм поведения, расстройстве когнитивных функций, росте тревожности (Буткевич И.П., 2018; Weinstock M., 2016). Существенно, что характер стресс-индуцированных изменений во многом зависит от пола потомства (Беляева Л.Е. и др., 2015).

В настоящее время доказано наличие взаимосвязи между формированием метаболических расстройств и развитием стрессорного состояния (Перцов С.С. и др., 2021; Мартюшева А.С. и др., 2022; Potter G.D. *et al.*, 2016; Pertsov S.S. *et al.*, 2018, 2021; Lian S. *et al.*, 2020). Установлено, что повторные стрессогенные нагрузки у беременных животных не только негативно влияют на нейроэндокринную систему матери, но также оказывают отрицательное воздействие на иммунные функции и метаболизм липидов и аминокислот у потомства (Lian S. *et al.*, 2020). Показано, что после пренатального стресса мыши характеризуется уменьшением объемов потребления кислорода, выделения углекислого газа и уровня теплообмена – одних из основных показателей интенсивности обменных процессов (Koshko L. *et al.*, 2021).

В научной литературе имеются отдельные сведения о наличии половых различий обменных расстройств у потомства после пренатального стресса. Например, установлено, что потомство самок мышей C57BL/6, подвергнутых стрессорным нагрузкам во 2-й половине беременности, имело более низкую массу тела с момента отлучения от груди до взросления, во многом в связи с меньшим объемом

потребляемого корма в период роста (St-Cyr S. *et al.*, 2018).

Ведущую роль в формировании широкого спектра ответных реакций у млекопитающих при стрессорных нагрузках играет нейроиммуноэндокринная система (Felger J.C., Lotrich F.E., 2013; Carson W.F., Kunkel S.L., 2017). Важно, что структуры мозга, оказывающие модулирующее влияние на иммунные процессы, функционально совпадают с центрами регуляции активности стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем (Морозов Б.Б., 2001). Доказано, что одной из самых значимых дисфункций, возникающих при стрессорных нагрузках, является изменение иммунного статуса организма (Перцов С.С., 2012; Корнева Е.А., 2017; Elwenspoek M.M.C. *et al.*, 2017; Sharif K. *et al.*, 2018; Nessaibia I. *et al.*, 2019).

Любые изменения иммунитета материнского организма программируют мозг и иммунную систему плода в критические периоды эмбриогенеза опосредовано через эпигенетические механизмы (Han V.X. *et al.*, 2021). В опытах на животных показано, что иммунная активация во время беременности служит фактором риска развития нейрхимических и поведенческих расстройств у потомства (Knuesel I. *et al.*, 2014). Роль «посредников» при формировании эффекта изменений активности иммунной системы матери на организм плода играют цитокины (Choi G.B. *et al.*, 2016).

Цитокины – это группа полипептидных медиаторов, участвующих в развитии иммунных реакций организма при внедрении патогенов, а также в регуляции таких физиологических функций, как эмбриогенез, регенерация тканей и других (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008). Стрессорные нагрузки различного генеза могут приводить к сложным колебаниям содержания указанных иммуноактивных веществ в биологических тканях (Абрамова А.Ю. и др., 2019; Перцов С.С. и др., 2021) В когортных исследованиях на людях выявлено, что нарушение цитокинового статуса биологических тканей материнского организма может иметь отдаленные последствия в виде развития расстройств аутистического спектра и синдрома дефицита внимания у потомства (Graham A.M. *et al.*, 2018; Gustafsson H.C. *et al.*, 2020).

Несмотря на актуальность и большой интерес к изучению механизмов, лежащих в основе нарушений физиологических функций у млекопитающих после пренатального стресса, многие вопросы в данной области остаются открытыми. В литературе недостаточно сведений об особенностях параметров метаболизма, поведения и иммунных функций после внутриутробной стрессорной нагрузки. Мало исследованы половые и возраст-зависимые различия перечисленных показателей у потомства материнских особей, подвергнутых стрессорному воздействию во время гестации. Не определено наличие взаимосвязей между двигательной активностью и уровнем тревожности, показателями цитокинового профиля тканей и интенсивности обменных процессов и у самцов и самок животных в разные периоды постнатального

онтогенеза после пренатального стресса.

### **Цель и задачи исследования**

Целью исследования явилось изучение влияния внутриутробного стрессорного воздействия на особенности поведения, метаболических параметров и иммунных показателей у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза.

В соответствии с поставленной целью, конкретными задачами работы были:

1. Изучить двигательную активность самцов и самок крыс в тесте «открытое поле» на 21-е, 30-е и 60-е сутки постнатального онтогенеза после внутриутробного стресса на модели принудительного плавания материнских особей в период беременности.

2. Оценить изменения уровня тревожности и исследовательской активности у самцов и самок крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» на 21-е, 30-е и 60-е сутки постнатального онтогенеза после внутриутробного стресса на модели принудительного плавания материнских особей в период беременности.

3. Исследовать характер изменений метаболических параметров у самцов и самок крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки постнатального онтогенеза после внутриутробного стресса на модели принудительного плавания материнских особей в период беременности.

4. Проанализировать некоторые показатели цитокинового профиля крови у самцов и самок крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки постнатального онтогенеза после внутриутробного стресса на модели принудительного плавания материнских особей в период беременности.

5. Определить возможные взаимосвязи между изученными физиологическими показателями у самцов и самок крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки постнатального онтогенеза после внутриутробного стресса на модели принудительного плавания материнских особей в период беременности.

### **Научная новизна работы**

В работе впервые выявлены особенности влияния внутриутробного стресса на показатели поведения животных на разных стадиях постнатального онтогенеза. Показано, что в этих экспериментальных условиях двигательная активность крыс в тесте «открытое поле» на 21-е сутки жизни меньше по сравнению контролем, но впоследствии возрастает у особей старших возрастных групп: у самцов – на 60-е, у самок – на 30-е и 60-е сутки постнатального онтогенеза.

Получены новые данные о специфике изменений показателей поведения потомства в приподнятом крестообразном лабиринте после материнского стресса во время беременности. Установлено, что самцы крыс этих групп на 60-е сутки жизни – ювенильный период – характеризуются снижением уровня тревожности по

показателям пребывания в рукавах лабиринта в сравнении с контролем. Изменения поведения у внутриутробно стрессированных самок более выражены, чем у самцов, что проявляется в повышении тревожности и подавлении исследовательской активности на 21-е и 30 сутки постнатального онтогенеза (подсосный и инфантильный периоды соответственно).

Обнаружено, что внутриутробный стресс влияет на период появления возраст-зависимых колебаний метаболических параметров у самцов крыс: объемы потребления кислорода, выдыхания углекислого газа и уровень тепловыделения снижаются в более ранние сроки, чем у контрольных особей – на 30-е сутки (по сравнению с 21-дневными крысами), достигая наименьших значений к 60-м суткам постнатального онтогенеза. У самок, подвергнутых пренатальному стрессу, изменения показателей интенсивности обменных процессов в разные периоды жизни аналогичны таковым у интактных особей.

Показана специфика иммунных отклонений у потомства животных, подвергнутых стрессу в период гестации. Данное воздействие не влияет на уровень провоспалительного цитокина ИЛ-6, но сопровождается снижением содержания противовоспалительного ИЛ-4 в крови: у самцов – на 30-е сутки (инфантильный период), у самок – на 21-е сутки жизни (подсосный возраст). В отличие от самцов крыс, самки после внутриутробной стрессорной нагрузки характеризуются отсутствием наблюдающегося в норме возраст-зависимого уменьшения содержания ИЛ-4, а также повышенным уровнем ИЛ-6 на 60-е сутки (ювенильный период) по сравнению с более ранними периодами жизни.

Внутриутробный стресс у крыс приводит к изменениям связей между иммунными, метаболическими и поведенческими параметрами, характер и направленность которых зависит от пола потомства и периода постнатального онтогенеза. Вызванные пренатальным стрессорным воздействием изменения изученных физиологических показателей проявляются в наибольшей степени в относительно ранние периоды постнатального онтогенеза и более выражены у самок животных по сравнению с потомством мужского пола.

### **Научно-практическая значимость работы**

Результаты выполненного диссертационного исследования могут быть использованы как в научно-исследовательской работе, так и в клинической практике. Теоретическое значение работы определяется расширением знаний о физиологических механизмах, лежащих в основе формирования негативных последствий внутриутробного стресса у млекопитающих в разные периоды постнатального онтогенеза. Представлены новые факты, иллюстрирующие половые и возрастные различия в характере изменений метаболических и иммунологических

параметров, во многом взаимосвязанных с показателями поведения – двигательной и исследовательской активностью, а также уровнем тревожности – после пренатального стрессорного воздействия. Обнаружены особенности корреляционных связей между изученными физиологическими показателями у потомства мужского и женского пола разного возраста после материнского стресса в период гестации.

Результаты экспериментальной работы, включающей в себя комплексный анализ поведенческих, метаболических и иммунных показателей, перспективны в плане разработки новых методов и подходов к предупреждению и/или коррекции развития негативных последствий пренатального стресса. Полученные данные могут быть применены в профилактической медицине при планировании мероприятий по мониторингу состояния здоровья детей в период раннего детства и в подростковом возрасте. Материалы исследования целесообразно использовать в курсе преподавания нормальной и патологической физиологии, иммунологии и педиатрии.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Характер влияния материнского стресса во время беременности на физиологические показатели потомства – параметры поведения, метаболизма и иммунитета – зависит от пола крыс и периода постнатального онтогенеза.

2. Нарушения ряда физиологических функций после пренатальной стрессорной нагрузки более выражены у самок крыс по сравнению с таковыми у самцов животных.

3. Вызванные внутриутробным стрессом изменения изученных показателей у потомства животных наиболее значимы в ранние периоды постнатального онтогенеза, чем у особей старшего возраста.

#### **Апробация работы**

Основные научные положения и выводы диссертационного исследования представлены на следующих научных мероприятиях: Конференция молодых ученых «Актуальные проблемы биологии развития» (Москва, 2021); V Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием молодых ученых, аспирантов и студентов «Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин», посвященная 90-летию Мордовского гос. университета имени Н.П. Огарёва (Саранск, 2021); 69-я Научно-практическая конференция ГОУ ТГМУ им. Абуали Ибни Сино с международным участием «Достижения и проблемы фундаментальной науки и клинической медицины», посвященная 30-летию Гос. независимости Республики Таджикистан и «Годам развития села, туризма и народных ремесел (2019-2021)» (Душанбе, 2021); Международная научно-практическая конференция «Медицинская наука в эру цифровой трансформации» (Курск, 2021); Конференция с международным участием «Медицинская физика, физиология и смежные

дисциплины в академической и вузовской науке» и Конференция молодых ученых и студентов «Физиология и физика в современной медицине», посвященные 100-летию МГМСУ им. А.И. Евдокимова (Москва, 2022); VI Междисциплинарная конференция с международным участием «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций», посвященная 90-летию со дня рождения академика К.В. Судакова (Москва, 2022); IX Российская конференция «Нейроиммунопатология» (с международным участием), посвященная 100-летию со дня рождения академика АМН СССР и РАМН Г.Н. Крыжановского (Москва, 2022); Итоговых научных сессиях НИИНФ им. П.К. Анохина «Системная организация физиологических функций» – XLVI (Москва, 2022), XLVII (Москва, 2023).

**Личный вклад автора** заключался в проведении аналитического обзора отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, сборе первичного материала и его статистической обработке. Автором проведены эксперименты на 96 крысах Вистар обоих полов. Моделирование пренатальной стрессорной нагрузки у животных, изучение показателей поведения крыс в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт», измерение уровня цитокинов в крови методом твердофазного иммуноферментного анализа, исследование параметров обменных процессов в метаболических клетках автор проводил лично.

### **Публикации**

По материалам диссертационной работы опубликовано 11 научных работ, отражающих основное содержание исследований: из них – 4 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ для защиты диссертаций; 2 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Web of Science; 1 статья в журнале, индексируемом в базе данных Scopus.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 164 страницах печатного текста, иллюстрирована 18 таблицами и 26 рисунками. Работа включает в себя следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Список сокращений», «Список литературы». Список литературы содержит 322 источников, из них 154 отечественных и 168 зарубежных.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Опыты проведены на 96 крысах Вистар обоих полов – потомстве 28 самок и 12 самцов (масса тела  $217.8 \pm 4.4$  и  $268.9 \pm 5.4$  г соответственно). Руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными этической комиссией НИИНФ им. П.К. Анохина (Протокол № 1 от



03.09.2005), и Директивой 2010/63/EU.

Для получения потомства крыс, самок ссаживали с самцами (в соотношении 4:1) на 10 ч в период с 21:00 до 7:00. Беременных самок крыс делили на 2 группы. Группа 1 состояла из 14 интактных особей (контроль). Группа 2 включала в себя 14 самок, подвергнутых стрессорной нагрузке на модели ежедневного принудительного плавания (Porsolt R.D. *et al.*, 1977) с модификациями при температуре 10°C в течение 5 мин с 10-го по 16-й день гестации. Данная модель предполагает воздействие физического и эмоциогенного факторов, приводит к развитию поведенческого отчаяния, формированию депрессивного состояния у животных (Porsolt R.D. *et al.*, 1977). Этот способ широко используется для исследования отставленных эффектов острого эмоционального стресса у крыс (Володина М.А. с соавт., 2010).

Рождение крысят регистрировали на 21-22-е сутки беременности. Были выделены 12 экспериментальных групп потомства по 8 особей в каждой:

- по полу – самцы / самки;
- по возрасту – 21-й / 30-й / 60-й дни жизни (подсосный возраст, инфантильный и ювенильный периоды соответственно; Никитина Ю.В., Мухина И.В., 2009);
- по экспериментальным условиям – контроль / стресс.

Физиологические показатели у потомства крыс всех экспериментальных групп регистрировали в указанные выше периоды постнатального онтогенеза.

Показатели интенсивности метаболизма у животных – объемы потребляемого кислорода ( $VO_2$ , мл/ч/кг) и выдыхаемого углекислого газа ( $VCO_2$ , мл/ч/кг), уровень тепловыделения (Н, ккал/ч/кг) – регистрировали в индивидуальных метаболических клетках с помощью модульной установки Phenomaster (*TSE Systems GmbH, Germany*) на протяжении 2 ч. Изучаемые параметры измеряли методом непрямой калориметрии с использованием модуля CaloSys в единицу времени с учетом массы тела крысы.

Поведение животных изучали в тестах «открытое поле» (Hall C.S., 1936) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ; Handley S.L., Mittani S., 1984) по 5 минут. Двигательную активность в открытом поле, отражающую ориентировочную поведенческую реакцию крыс на новую обстановку, оценивали по индексу активности (Коплик Е.В., 2002). Данный показатель вычисляли по формуле: сумму числа пересеченных периферических и центральных секторов, вертикальных стоек и исследованных объектов делили на сумму латентных периодов первого движения и выхода в центр. При тестировании в ПКЛ в условиях переменной стрессогенности показателями тревожности животных служили общее время нахождения и количество заходов в закрытые или открытые рукава, а уровня исследовательской активности – количество свешиваний с открытых рукавов и число вертикальных стоек.

Потомство крыс декапитировали; полученные пробы сыворотки крови быстро

замораживали в жидком азоте и хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ . После соответствующей обработки их использовали для определения уровня провоспалительного цитокина ИЛ-6 и противовоспалительного ИЛ-4. Измерения проводили методом твердофазного ИФА на приборе HTI ImmunoChem-2100 (*Microplate reader*, USA) с использованием коммерческих наборов для анализа цитокинов (АО «Вектор-Бест», Россия).

Полученные результаты обрабатывали с помощью программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) и Microsoft Office Excel 2019. Групповые выборки данных не подчинялись закону нормального распределения (по критерию Шапиро-Уилка), поэтому для проведения статистического анализа применялись непараметрические критерии. При необходимости множественного межгруппового сравнения использовали дисперсионный анализ – критерий Краскела-Уоллиса для независимых переменных. При наличии статистически значимых различий по указанному критерию применяли апостериорный попарный анализ межгрупповых различий изучаемых показателей с помощью *U*-критерия Манна-Уитни для независимых групп. Корреляционный анализ внутригрупповых связей между исследуемыми параметрами проводили с применением непараметрического коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Минимальный принятый уровень значимости отличий – 5%. Числовые данные приведены как медиана (Me), верхний и нижний квартили (Q1; Q3).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В ОТКРЫТОМ ПОЛЕ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Установлено, что у внутриутробно стрессированных крыс обоего пола на 21-е сутки жизни индекс активности был значительно меньше, чем у контрольных особей ( $p < 0,05$ ; табл. 2). Полученный факт дополняет имеющиеся данные. Показано, что пренатальный стресс на модели повторных иммобилизаций с 15-го дня гестации приводит к снижению исследовательского поведения животных на 14-е и 21-е сутки жизни (Gutiérrez-Rojas C. *et al.*, 2013). Предполагается, что последствия внутриутробной стрессорной нагрузки – нарушения поведения с сопутствующими морфологическими изменениями в нейронах орбитофронтальной коры мозга – проявляются не только в зрелом возрасте, но и в раннем постнатальном онтогенезе.

Выявлено, что в отличие от интактных крыс, пренатально стрессированные особи демонстрируют постепенное увеличение индекса активности в тесте «открытое поле» – от раннего к более старшему возрасту. Указанные отличия у самцов наиболее выражены на 60-е сутки (ювенильный период,  $p < 0,05$ ), а у самок – на 30-е и 60-е сутки развития (инфантильный и ювенильный периоды,  $p < 0,01$ ).

**Таблица 2.** Индекс активности в открытом поле у интактных и пренатально стрессированных самцов и самок крыс (Me (Q1;Q3))

Группа, №	Экспериментальные условия	Пол	Возраст, дни	Индекс активности
1	Интактная группа	Самцы	21-е	0,65 (0,20;1,03)
2			30-е	0,55 (0,20;1,15)
3			60-е	0,40 (0,10;1,60)
4	Пренатальный стресс	Самцы	21-е	<b>0,10 (0,06;0,40)*</b>
5			30-е	0,30 (0,15;0,75)
6			60-е	<b>0,80 (0,40;1,35)<sup>x</sup></b>
7	Интактная группа	Самки	21-е	0,66 (0,07;1,03)
8			30-е	0,95 (0,20;2,30)
9			60-е	0,30 (0,20;2,30)
10	Пренатальный стресс	Самки	21-е	<b>0,07 (0,01;0,09)*</b>
11			30-е	<b>0,50 (0,30;0,80)<sup>xx</sup></b>
12			60-е	<b>0,60 (0,20;2,80)<sup>xx</sup></b>

**Примечание:** \*  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой; <sup>x</sup> $p < 0,05$  и <sup>xx</sup> $p < 0,01$ , по сравнению с показателями крыс в возрасте 21 день.

#### **ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В ПРИПОДНЯТОМ КРЕСТООБРАЗНОМ ЛАБИРИНТЕ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Выявлено, что внутриутробно стрессированные самцы в 60-дневном возрасте проводили больше времени в открытых рукавах лабиринта по сравнению с контролем (на 38,53%,  $p < 0,05$ ), а также реже посещали закрытые рукава (на 23,1 %,  $p < 0,05$ ; табл. 3). Кроме того, крысы данной группы в 30- и 60-дневном возрасте проводили меньше времени в закрытых рукавах, чем на 21-й день жизни (на 21,5 и 29,0% соответственно,  $p < 0,05$ ). Время нахождения самцов в открытых рукавах лабиринта на 60-й день онтогенеза было больше, чем у 21-дневных особей (на 104,6%,  $p < 0,05$ ).

Следовательно, пренатально стрессированные самцы в ювенильном периоде – 60-е сутки жизни – характеризуются снижением уровня тревожности по показателям пребывания в рукавах ПКЛ. Это согласуется с результатами работ, выполненных Н.Э. Ордян с соавт. (2013). Показано, что после внутриутробной стрессорной нагрузки исходно более тревожные самцы по параметрам поведения приближаются к менее тревожным самкам. Возможно, выявленные особенности обусловлены нарушением выработки мужских половых гормонов, а стресс-индуцированные изменения ведут к нивелированию половых различий тревожности у экспериментальных животных.

Самки крыс, подвергнутые внутриутробному стрессу, на 30-й день жизни чаще

находились в закрытых рукавах по сравнению с контрольными особями (на 23,1%,  $p<0,05$ ). У этих животных число заходов в закрытые рукава на 30-й день жизни возрастало по сравнению с 21-дневными особями (на 128,6%,  $p<0,001$ ), но снижалось к 60-му дню онтогенеза (на 25,0% по сравнению с предыдущим периодом,  $p<0,05$ ).

Внутриутробно стрессированные самки на 21-й день жизни реже заходили в открытые рукава по сравнению с контролем (на 25,0%,  $p<0,05$ ). Установлено, что число заходов в открытые рукава лабиринта у самок из группы стресса на 30-й день жизни было на 83,3% больше, чем у 21-дневных особей ( $p<0,001$ ). Существенно, что пренатально стрессированные самки 30-дневного возраста чаще находились в закрытых рукавах, чем самцы (на 31,3%,  $p<0,05$ ).

При изучении исследовательской активности выявлено, что у 21-дневных пренатально стрессированных самок число свешиваний было на 30,7% меньше, чем у контрольных особей ( $p<0,05$ ). После внутриутробного стресса этот показатель на 30-е и 60-е дни жизни был больше, чем на 21-й день онтогенеза: у самцов – на 100 и 112% соответственно ( $p<0,001$ ); у самок – на 115% ( $p<0,001$  и  $p<0,01$  соответственно).

Следовательно, самки крыс, подвергнутые внутриутробному стрессорному воздействию, характеризуются более выраженными изменениями поведения в ПКЛ по сравнению с самцами. Пренатальный стресс у самок приводит к подавлению исследовательской активности в подсосном возрасте, а также к повышению тревожности в подсосном и инфантильном периодах.

Полученные данные находят подтверждение в результатах работы А.В. Граф с соавт. (2012). Обнаружено, что потомство крыс после внутриутробной стрессорной нагрузки в период раннего органогенеза (9-10-й день гестации) демонстрирует снижение локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности с одновременным ростом уровня тревожности на 22-е сутки жизни.

В наблюдениях на людях показано, что воздействие стрессорных факторов на беременных приводит к росту концентрации кортизола в крови (Braithwaite E.C. *et al.*, 2017). Экспериментально выявлено, что избыток этого гормона проникает через плацентарный барьер, оказывая отрицательное влияние на развитие плода (Сашков В.А. и др., 2008). Стресс во время беременности вызывал более значимые нарушения физиологических показателей у новорожденных женского пола, чем мужского.

В других исследованиях (Parducz A. *et al.*, 2006) выявлено, что самки крыс превосходят самцов в выполнении ряда поведенческих тестов как в неонатальном, так и в раннем постнатальном периоде развития. Предполагается, что нейрохимической основой половых различий поведения у млекопитающих является комплексное влияние многих гормонов (андрогенов, эстрогенов и кортикостероидов) на развивающийся мозг во внутриутробном и постнатальном периодах развития.

**Таблица 3.** Показатели поведения в приподнятом крестообразном лабиринте у интактных и пренатально стрессированных самцов и самок крыс (Me (Q1;Q3))

Показатель поведения	Пол	Контроль			Пренатальный стресс		
		21-е сутки жизни (подсосный)	30-е сутки жизни (инфантильный)	60-е сутки жизни (ювенильный)	21-е сутки жизни (подсосный)	30-е сутки жизни (инфантильный)	60-е сутки жизни (ювенильный)
время нахождения в закрытых рукавах	самки	180,40 (151,25; 217,15)	142,85 (110,95; 175,75)	169,20 (150,40; 231,60)	197,70 (158,60; 232,45)	159,75 (144,80; 182,85)	182,15 (146,95; 209,90)
	самцы	218,85 (189,15; 232,70)	<b>145,00</b> <b>(123,65; 159,35)<sup>x</sup></b>	178,45 (144,60; 197,30)	182,80 (168,75; 214,75)	<b>143,45</b> <b>(104,45; 159,45)<sup>x</sup></b>	<b>129,90</b> <b>(110,55; 166,30)<sup>x</sup></b>
время нахождения в открытых рукавах	самки	55,00 (41,15; 76,30)	81,35 (51,15; 105,50)	<b>17,00</b> <b>(14,80; 54,20)<sup>#</sup></b>	31,65 (23,35; 70,90)	62,05 (44,15; 78,85)	71,35 (53,50; 108,60)
	самцы	39,10 (24,45; 42,35)	65,65 (35,95; 75,50)	31,20 (24,90; 61,80)	44,45 (35,55; 70,50)	69,15 (55,85; 96,80)	<b>90,95</b> <b>(70,05; 116,75)<sup>* x</sup></b>
количество заходов в закрытые рукава	самки	5,00 (4,00; 5,50)	6,50 (5,50; 7,50)	7,00 (5,00; 9,00)	3,50 (2,00; 5,50)	<b>8,00</b> <b>(7,00; 9,00)<sup>* xxx</sup></b>	<b>6,00</b> <b>(4,00; 7,00)<sup>#</sup></b>
	самцы	4,00 (2,50; 6,50)	6,50 (5,00; 7,00)	6,50 (5,00 ;8,50)	4,00 (2,50; 5,50)	<b>5,50</b> <b>(5,00; 7,50)<sup>*</sup></b>	<b>5,00</b> <b>(4,00; 5,50)<sup>*</sup></b>
количество заходов в открытые рукава	самки	4,00 (3,50;5,00)	6,00 (4,00;7,00)	3,00 (2,00;6,00)	<b>3,00</b> <b>(2,00;3,00)<sup>*</sup></b>	<b>5,50</b> <b>(5,00;6,00)<sup>xxx</sup></b>	3,00 (2,00;6,00)
	самцы	<b>3,00</b> <b>(2,00; 4,00)<sup>*</sup></b>	<b>4,50</b> <b>(4,00; 5,50)<sup>x</sup></b>	3,50 (3,00; 4,00)	4,50 (2,50; 5,50)	5,00 (4,00; 5,50)	4,50 (4,00; 5,00)
количество свешиваний с открытых рукавов	самки	11,00 (8,00; 13,00)	15,00 (10,00; 20,00)	17,00 (9,00; 23,00)	<b>6,50</b> <b>(4,50; 8,00)<sup>*</sup></b>	<b>14,00</b> <b>(13,00; 18,00)<sup>xxx</sup></b>	<b>14,00</b> <b>(13,50; 17,00)<sup>xx</sup></b>
	самцы	8,50 (5,50; 10,50)	<b>13,00</b> <b>(10,00; 19,00)<sup>x</sup></b>	<b>17,00</b> <b>(15,50; 22,00)<sup>xxx</sup></b>	8,50 (6,00; 10,50)	<b>17,00</b> <b>(15,00; 19,00)<sup>xxx</sup></b>	<b>18,00</b> <b>(17,00; 26,00)<sup>xxx</sup></b>
количество вертикальных стоек	самки	6,50 (4,00; 11,00)	9,00 (8,00; 10,50)	<b>13,00</b> <b>(11,00; 18,00)<sup>x#</sup></b>	6,50 (5,00; 8,00)	<b>10,00</b> <b>(8,50; 10,50)<sup>xx</sup></b>	<b>9,50</b> <b>(8,00; 14,00)<sup>xx</sup></b>
	самцы	8,50 (6,50; 13,00)	9,00 (7,00; 12,00)	11,00 (7,50; 13,50)	6,50 (5,00; 10,50)	8,50 (5,00; 10,00)	10,00 (8,50; 10,50)

**Примечание.** \* $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой; <sup>x</sup> $p < 0,05$ , <sup>xx</sup> $p < 0,01$  и <sup>xxx</sup> $p < 0,001$  по сравнению с показателями крыс в возрасте 21 день; <sup>#</sup> $p < 0,05$  по сравнению с показателями крыс в возрасте 30 дней; <sup>\*</sup> $p < 0,05$  по сравнению с самками.

## ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ У КРЫС В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Объемы потребляемого кислорода, выдыхаемого углекислого газа и уровень тепловыделения у крыс обоего пола, полученных от интактных материнских особей, практически не отличались в подсосном и инфантильном возрасте, но выражено снижались в ювенильном периоде развития на 60-е сутки жизни: у самцов – по сравнению с 21-ми сутками ( $p < 0,05$ ), у самок – по сравнению с 21-ми ( $p < 0,05$ ) и 30-ми сутками ( $p < 0,001$ ; табл. 4).

Выявлено, что внутриутробный стресс не приводит к статистически значимым изменениям абсолютных значений этих параметров у крыс по сравнению с контролем.

У внутриутробно стрессированных самцов указанные показатели на 30-е сутки жизни были ниже, чем у 21-дневных особей (на 43,77, 30,13 и 41,51% соответственно;  $p < 0,05$ ). Данные параметры снижались к 60-му дню жизни и были значимо меньше, чем на 21-е и 30-сутки жизни: количество вдыхаемого кислорода – на 59,35 и 27,71% соответственно ( $p < 0,001$ ); объем выдыхаемого углекислого газа – на 53,56%;  $p < 0,05$ ) и 33,53% соответственно ( $p < 0,001$ ); интенсивность выделения тепла – на 58,49 и 29,03% соответственно ( $p < 0,001$ ).

После пренатального стресса у самок показатели интенсивности метаболизма практически не отличались в возрасте 21 и 30 дней. Указанные параметры у 60-дневных самок снижались и были меньше, чем на 21-е и 30-е сутки развития: объем потребляемого кислорода – на 40,82 и 36,28% соответственно ( $p < 0,001$ ); количество выдыхаемого углекислого газа – на 39,96 и 38,22% ( $p < 0,001$ ) соответственно; уровень тепловыделения – на 41,03 и 37,84% соответственно ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, внутриутробный стресс оказывает влияние на время появления возраст-зависимых колебаний метаболических параметров у самцов, но не у самок крыс. У этих животных показатели интенсивности обменных процессов снижаются в более ранние сроки, чем в контроле – в инфантильном периоде (по сравнению с 21-дневными крысами), достигая наименьших значений к 60-м суткам развития.

Возможно, пренатальная стрессорная нагрузка способствует более раннему наступлению происходящих в норме возраст-зависимых изменений физиологических процессов. Эта подтверждается результатами опытов на модели повторяющихся стрессорных нагрузок у самок крыс в период гестации (Рыжавский Б.Я., Соколова Т.В., 2002). Анализ состояния половых желез и надпочечников, массы тела и мозга, а также гистохимических и морфометрических индексов ЦНС у потомства таких крыс выявил ряд особенностей, являющиеся признаками акселерации.

**Таблица 4.** Расчётные показатели объема поглощаемого кислорода ( $VO_2$ , мл/ч/кг), выдыхаемого углекислого газа ( $VCO_2$ , мл/ч/кг) и выделения тепла в единицу времени ( $H$ , ккал/ч/кг) с учётом массы тела крысы ( $Me$  ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ))

Экспериментальные условия	Возраст, дни	$VO_2$	$VCO_2$	$H$
Потомство интактных крыс (самки), $n=8$	21	3348,50 (2709,00; 3895,00)	2970,00 (2345,50; 3513,50)	16,50 (13,50; 19,00)
	30	3344,50 (2993,00; 3690,50)	3176,00 (2726,50; 3539,00)	17,00 (14,50; 18,50)
	60	<b>2099,00</b> <b>(1947,00; 2143,00)</b> <sup>x###</sup>	<b>2046,00</b> <b>(1868,00; 2386,00)</b> <sup>#</sup>	<b>10,00</b> <b>(10,00; 11,00)</b> <sup>x###</sup>
Потомство интактных крыс (самцы), $n=8$	21	3625,50 (3119,50; 5457,00)	3341,00 (2925,50; 4813,00)	18,00 (15,50; 27,00)
	30	3387,50 (2877,00; 3692,50)	3215,50 (2563,50; 3691,50)	17,00 (14,00; 18,50)
	60	<b>2130,00</b> <b>(2024,50; 2264,00)</b> <sup>x</sup>	<b>2029,00</b> <b>(1911,50; 2193,50)</b> <sup>x</sup>	<b>11,00</b> <b>(10,00; 11,50)</b> <sup>x</sup>
Потомство, подвергнутое пренатальному стрессу (самки), $n=8$	21	3984,50 (3588,00; 5109,00)	3526,00 (2986,50; 4374,00)	19,50 (17,50; 24,50)
	30	3700,50 (3114,50; 4021,50)	3426,50 (3028,00; 3773,00)	18,50 (15,50; 19,50)
	60	<b>2358,00</b> <b>(2151,00; 2410,00)</b> <sup>xxx###</sup>	<b>2117,00</b> <b>(2035,00; 2196,50)</b> <sup>xxx###</sup>	<b>11,50</b> <b>(10,50; 12,00)</b> <sup>xxx###</sup>
Потомство, подвергнутое пренатальному стрессу (самцы), $n=8$	21	5519,00 (4716,50; 5927,50)	4391,50 (3799,00; 5004,00)	26,50 (22,50; 29,00)
	30	<b>3103,50</b> <b>(2664,50; 3240,00)</b> <sup>x</sup>	<b>3068,50</b> <b>(2670,00; 3361,00)</b> <sup>x</sup>	<b>15,50</b> <b>(13,50; 16,50)</b> <sup>x</sup>
	60	<b>2243,50</b> <b>(2065,00; 2319,50)</b> <sup>xxx###</sup>	<b>2039,50</b> <b>(1964,50; 2085,50)</b> <sup>x###</sup>	<b>11,00</b> <b>(10,50; 11,00)</b> <sup>xxx###</sup>

**Примечание.** <sup>x</sup> $p < 0,05$  и <sup>xxx</sup> $p < 0,001$  по сравнению с показателями крыс в возрасте 21 день; <sup>#</sup> $p < 0,05$  и <sup>###</sup> $p < 0,001$  по сравнению с показателями крыс 30 дней.

В наблюдениях на людях показано, что дети, родившиеся с низкой массой тела вследствие низкокалорийного питания матери при беременности (метаболический стресс), склонны к гиперфагии и быстрой прибавке в весе после рождения. Данные особенности могут быть связаны с изменениями функциональной активности орексигенной системы (Квиткова Л.В. и др., 2019; Нетребенко О.К. и др., 2017).

Обнаруженные нами возраст-зависимые колебания показателей интенсивности метаболических процессов согласуются со сведениями о возрастной анатомии и физиологии млекопитающих (Михайлов П.В. и др., 2012). Представленные данные дополняют результаты наших предыдущих экспериментов, продемонстрировавших интенсификацию обменных процессов у крыс в ранние сроки после отрицательной эмоциогенной нагрузки (Перцов С.С. и др., 2021).

### **КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ У КРЫС В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА**

Выявлено, что пренатальный стресс не влияет на уровень провоспалительного цитокина ИЛ-6, но сопровождается специфическими изменениями концентрации противовоспалительного ИЛ-4 в сыворотке крови у потомства (табл. 5). После стрессорного воздействия содержание ИЛ-4 в крови на ранних сроках постнатального онтогенеза как у самцов (инфантильный период – 30-е сутки), так и у самок (подсосный возраст – 21-е сутки) было меньше, чем у интактных животных: на 65,0 и 79,6% соответственно ( $p < 0,05$ ). Полученные данные дополняют результаты работы Vitkovic L. с соавт. (2001). Показано, что уровень экспрессии генов ИЛ-4 в тканях гипоталамуса животных после хронического стресса снижается по сравнению с контролем. Предполагается, что этот цитокин участвует в реализации регуляторных влияний на поведенческие реакции, в том числе, с вовлечением в процессы регуляции синаптической пластичности, нейрональной трансмиссии и  $Ca^{2+}$ -сигналинга.

Нами обнаружено, что в отличие от самцов, у внутриутробно стрессированных самок в ювенильный период – на 60-е сутки жизни – наблюдается рост уровня ИЛ-4 на 115,5%, по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Это согласуется со сведениями о свойствах цитокина. Известно, что эстрогены влияют на разные типы иммунных клеток и вносят вклад в ускорение протекания воспалительного процесса в сторону его деактивации; большая роль при этом отводится именно ИЛ-4 (Villa A. *et al.*, 2015).

Выявлено, что снижение содержания ИЛ-4 в крови – от наибольшего уровня в подсосном возрасте (21-й день) до минимальных значений в ювенильный период (60-й день) – наблюдается как у интактных ( $p < 0,01$ ), так и у стрессированных самцов крыс ( $p < 0,05$ ). У самок возраст-зависимые изменения концентрации этого цитокина



выявлены только у интактных особей ( $p < 0,01$ ), но не после внутриутробного стресса. Полученные данные косвенно подтверждаются результатами работы (Косырева А.М., Макарова О.В., 2020), выявившей более значимую супрессию продукции цитокинов при экспериментальных внешних воздействиях у самцов крыс, чем у самок.

Полученные результаты дополняют имеющиеся сведения о характере возраст-зависимых колебаний концентрации изученных цитокинов. Показано, например, что у крыс Вистар в условиях физиологической нормы уровень продукции ИЛ-6 на 10-е сутки жизни выше по сравнению с новорожденными животными, в то время как у половозрелых особей данный показатель снижается (Симонова Е.Ю. и др., 2014).

**Таблица 5.** Концентрация ИЛ-6 и ИЛ-4 в сыворотке крови у интактных и пренатально стрессированных самцов и самок крыс (пг/мл, Ме (Q1;Q3))

Группа, №	Экспериментальные условия	Пол	Возраст, дни	ИЛ-6	ИЛ-4
1	Интактная группа	Самцы	21-е	<b>11,37</b> (10,06; 27,56) <sup>•</sup>	45,00 (34,85; 123,82)
2			30-е	35,49 (35,44; 39,37)	31,96 (24,03; 48,15)
3			60-е	8,98 (8,31; 10,93)	<b>6,78</b> (3,40; 18,19) <sup>xx, #</sup>
4	Пренатальный стресс	Самцы	21-е	9,19 (8,31; 15,71)	14,56 (11,18; 33,76)
5			30-е	14,44 (9,18; 24,06)	<b>11,18</b> (9,15; 17,26) <sup>*</sup>
6			60-е	16,19 (4,81; 24,06)	<b>5,76</b> (2,38; 12,52) <sup>x, •</sup>
7	Интактная группа	Самки	21-е	37,62 (28,51; 41,31)	76,63 (54,45; 108,94)
8			30-е	<b>5,92</b> (4,81; 6,55) <sup>x</sup>	<b>34,18</b> (15,91; 39,16) <sup>xx</sup>
9			60-е	32,81 (3,93; 108,94)	<b>15,23</b> (10,50; 22,00) <sup>xx</sup>
10	Пренатальный стресс	Самки	21-е	12,64 (7,85; 13,59)	<b>15,61</b> (8,82; 34,18) <sup>*</sup>
11			30-е	13,56 (3,94; 20,56)	14,56 (9,82; 26,06)
12			60-е	<b>26,69</b> (15,31; 36,31) <sup>xx</sup>	<b>32,82</b> (16,59; 40,26) <sup>*</sup>

**Примечание.** <sup>\*</sup> $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой; <sup>x</sup> $p < 0,05$ , <sup>xx</sup> $p < 0,01$  по сравнению с показателями крыс в возрасте 21 день; <sup>#</sup> $p < 0,05$ , по сравнению с показателями крыс в возрасте 30-и дней; <sup>•</sup> $p < 0,05$  по сравнению с самками.

В нашей работе показано, что у самок крыс, подвергнутых пренатальному стрессу, уровень ИЛ-6 в крови на 60-е сутки жизни превышал значения у 21-дневных особей (на 111,1%,  $p < 0,01$ ). Половые особенности, проявляющиеся в более высокой

концентрации цитокинов у самок по сравнению с таковой у самцов, наблюдаются на разных сроках развития: ИЛ-6 – в контроле, на 21-е сутки жизни (в 3,3 раза,  $p < 0,05$ ); ИЛ-4 – после пренатального стресса, на 60-е сутки жизни (в 5,7 раз,  $p < 0,05$ ).

Результаты наших опытов, иллюстрирующие особенности участия цитокинов в регуляции физиологических процессов у млекопитающих после пренатального стресса, дополняют результаты предыдущих работ в данной области. В опытах на модели плавания животных в холодной воде при 0-4°C (2 мин ежедневно, 10 дней) выявлено повышение уровня экспрессии генов ИЛ-4 и ИЛ-6 в тканях тимуса, что свидетельствует об увеличении активности цитокин-кодирующих генов (Янкелевич И.А. и др., 2019). Эти факты в совокупности с данными, полученными в НИИНФ им. П.К. Анохина, иллюстрируют изменение баланса между цитокинами, выполняющими сигнальную роль на разных стадиях иммунного ответа (Абрамова А.Ю. и др., 2013).

#### **КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОВЕДЕНИЯ, УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ И ПАРАМЕТРОВ МЕТАБОЛИЗМА ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ У КРЫС В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА**

В данном разделе рассмотрены результаты анализа корреляционных связей между показателями поведения, метаболизма и иммунных функций у крыс в разные периоды постнатального развития после внутриутробной стрессорной нагрузки. Схемы взаимосвязей между изученными физиологическими параметрами у особей разных экспериментальных групп представлены на рисунках 1-2. Проанализированы положительные и отрицательные корреляции при статистической значимости  $p < 0,05$ .

Установлено, что корреляционные взаимосвязи между параметрами поведения и уровня метаболизма в контрольной группе у самцов наблюдаются в инфантильном и ювенильном (на 30-е и 60-е сутки жизни), а у самок – только в ювенильном периоде развития (60-е сутки жизни).

Эти факты можно рассматривать, исходя из результатов работы В.Е. Соколова и С.А. Квашнина (1990). Выявлено, что характер социальных взаимоотношений у крыс изменяется после 35-го дня постнатального онтогенеза, в том числе, в связи с формированием репродуктивного поведения. В других исследованиях обнаружено усиление двигательной активности самок данного возраста по сравнению с самцами (Шишелова А.Ю., 2012; Lynn D.A., Brown G.R., 2009), что свидетельствует о более раннем начале формирования взрослого паттерна исследовательского поведения у особей женского пола. Указанные особенности, возможно, обусловлены тем, что к 24-м суткам жизни у самок уже созревают основные компоненты исследовательского поведения в новой обстановке, определяющие индивидуальную поведенческую активность в течение пубертатного периода (Шишелова А.Ю., 2012).

В нашей работе обнаружено, что в отличие от интактных особей, у пренатально стрессированных крыс корреляции между параметрами поведения и метаболизма проявляются на более ранних сроках развития – к 21-м суткам жизни. При этом у самцов выявлены только обратные, а у самок – как обратные, так и прямые связи.

После внутриутробного стресса у самцов взаимосвязи между указанными выше показателями отсутствуют на 30-е и 60-е сутки жизни. Пренатальный стресс у самок сопровождается изменением направленности и характера, увеличением числа связей в ювенильном периоде (60-е сутки) по сравнению с контролем. Важно, что у самок к 60-м суткам развития обнаружено уменьшение числа и изменение знака корреляций между изученными параметрами по сравнению с таковыми у 21-дневных крыс.

В пренатальном и в раннем постнатальном онтогенезе млекопитающих происходит формирование функциональных систем гомеостатического уровня (Судаков К.В., 2011). В работе В.И. Дунай (2008) показано, что период формирования механизмов теплообмена у крыс соответствует первым 3-м неделям постнатального онтогенеза. Выявлено, что интенсивность процесса синаптогенеза у этих животных достигает максимального уровня к концу 2-й недели жизни (Crema V.O. *et al.*, 2008). Формирование нейромедиаторных систем у крыс завершается на 21-й день развития (Галкина О.В. и др., 2014; Бахтюков А.А. и др., 2016). Возможно, перечисленные особенности обуславливают обнаруженное нами появление значительного числа корреляций между параметрами метаболизма и поведения именно в ранние сроки развития (21-е сутки) по сравнению с последующими периодами онтогенеза.

Установлено, что после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов, в отличие от самок, наблюдаются взаимосвязи уровня провоспалительного цитокина ИЛ-6 в сыворотке крови: отрицательные – с показателями поведения в ПКЛ (Т-ОткРук, N-ЗакРук) на 21-е и 30-е сутки; положительные – с параметрами метаболизма ( $VO_2$ , H) на 60-е сутки постнатального развития.

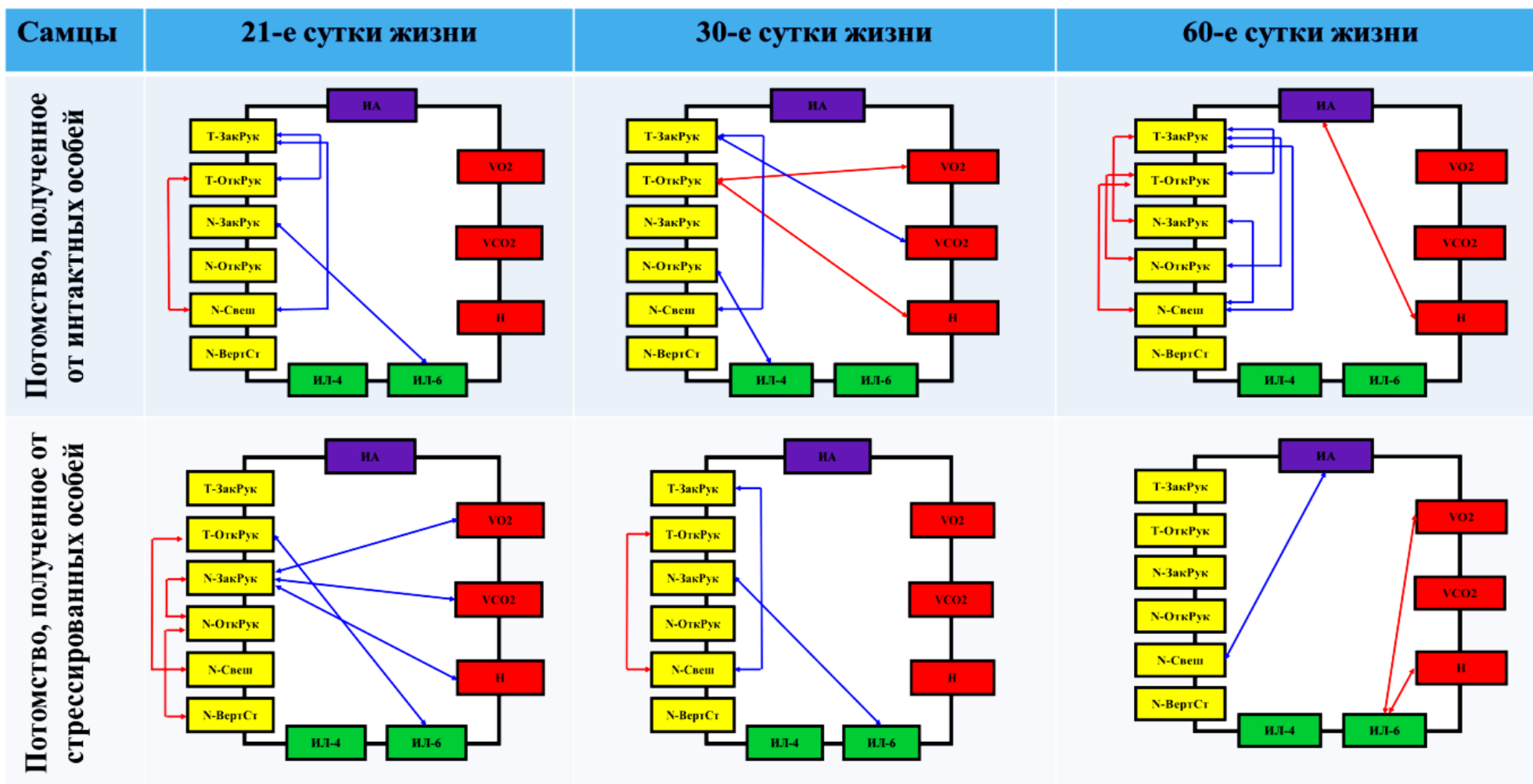
Полученные факты находят объяснение в результатах работ, иллюстрирующих усиление синтеза провоспалительных цитокинов, в частности, ИЛ-6 при стрессорных нагрузках (Newton T.L. *et al.*, 2017). С другой стороны, такие цитокины, как ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , играют роль в активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса (Погожева Е.Ю., 2008; Перцов С.С., 2011). Одна из классических реакций на стресс – выброс глюкокортикоидных гормонов, к физиологическим эффектам которых относятся мобилизация энергетических ресурсов посредством усиления гликонеогенеза, повышение сосудистого тонуса и другие, направленные на стимуляцию адаптивного ответа. С точки зрения нейроиммунных взаимодействий, глюкокортикоиды – это основные эффекторные молекулы гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, регулирующие иммунный ответ при стрессе (Padgett D.A.,

Glaser R., 2003). Обнаруженные нами положительные взаимосвязи уровня ИЛ-6 в крови и параметров метаболизма у внутриутробно стрессированных самцов в ювенильном периоде развития, возможно, указывают на отставленный эффект воздействия, проявляющийся в усиленной секреции провоспалительного цитокина с сопутствующей активацией обмена веществ.

В то же время, у самок крыс, подвергнутых пренатальному стрессу, в инфантильном периоде на 30-е сутки жизни появляются отсутствующие в контроле обратные корреляции концентрации противовоспалительного ИЛ-4 с показателями метаболизма – объемом выдыхаемого углекислого газа и уровнем тепловыделения.

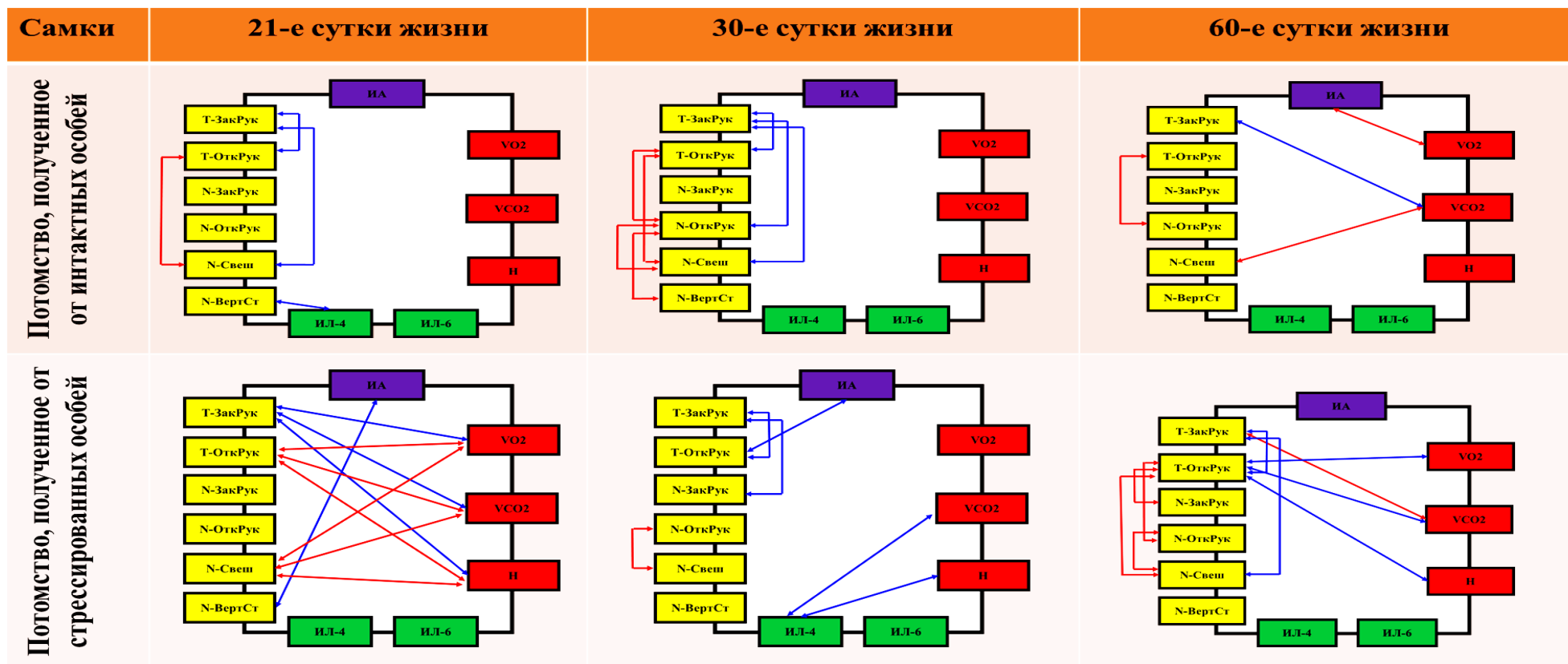
Выявленные нами корреляции дополняют сведения о тесной взаимосвязи между иммунной системой и метаболизмом в регуляции физиологических функций. Имеются доказательства того, что колебания интенсивности обменных процессов и иммунного статуса оказывают значимое влияние на поведение млекопитающих (Маркова Е.В., Княжева М.А., 2014., Прохоренко И.О. и др., 2017). Известно, что реализация функций иммунокомпетентных клеток во многом зависит от уровня метаболизма, а активность иммуноцитов определяется, в частности, дыхательно-трофическим гомеостазом (Караулов А.В., 1989). Большую роль при этом играет гипоталамус, порог чувствительности которого к влияниям периферических гормонов может повышаться в определенных условиях. Это сопровождается усиленной секрецией гипофизарных гормонов, инсулина, глюкокортикоидов, которые могут вызывать изменения метаболизма (Дильман В.М., Цырлина Е.В., 1989).

В контексте обнаруженных корреляций между метаболическими и иммунными показателями у внутриутробно стрессированных самок животных в инфантильном периоде необходимо отметить следующее. Именно на 30-е сутки постнатального онтогенеза у крыс при закрытии гематоэнцефалического барьера норадреналин, уровень которого в периферической крови достигает максимальных физиологических значений, оказывает специфическое влияние на периферические органы-мишени (Сайфетярова Ю.Ю. и др., 2014). Существенно, что концентрация норадреналина в этот период у самок животных значительно выше, чем у самцов. Данный факт, в частности, может вносить вклад в выявленные в нашем исследовании половые и возраст-зависимые особенности связей между анализируемыми параметрами у крыс после пренатального стрессорного воздействия.



**Рисунок 1.** Корреляционные связи концентрации цитокинов в крови (ИЛ-4, ИЛ-6), показателей метаболизма ( $VO_2$ ,  $VCO_2$ , H), индекса активности (ИА) в открытом поле, общего времени нахождения в закрытых и открытых рукавах лабиринта (Т-ЗакРук и Т-ОткРук), количества заходов в закрытые и открытые рукава (N-ЗакРук и N-ОткРук), числа вертикальных стоек (N-ВертСт) и свешиваний с открытых рукавов (N-Свеш) у самцов контрольной группы, а также у животных, подвергнутых внутриутробной стрессорной нагрузке.

Здесь и на рис. 2: красные стрелки – положительные корреляции, синие стрелки – отрицательные корреляции.



**Рисунок 2.** Корреляционные связи концентрации цитокинов в крови (ИЛ-4, ИЛ-6), показателей метаболизма ( $VO_2$ ,  $VCO_2$ , H), индекса активности (ИА) в открытом поле, общего времени нахождения в закрытых и открытых рукавах лабиринта (Т-ЗакРук и Т-ОткРук), количества заходов в закрытые и открытые рукава (N-ЗакРук и N-ОткРук), числа вертикальных стоек (N-ВертСт) и свешиваний с открытыми рукавами (N-Свеш) у самок контрольной группы, а также у животных, подвергнутых внутриутробной стрессорной нагрузке.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Результаты проведенного исследования указывают на то, что внутриутробное стрессорное воздействие у крыс на модели принудительного плавания материнских особей в воде (10°C, 5 мин) с 10-го по 16-й день гестации оказывает модулирующее влияние на параметры поведения, показатели интенсивности обменных процессов и иммунные функции у потомства. Установлено, что характер изменений иммунологических и метаболических параметров, взаимосвязанных с показателями поведения – уровнем тревожности, локомоторной и исследовательской активностью – зависит от пола потомства и периода постнатального онтогенеза. Выявлено, что отклонения ряда анализируемых параметров после пренатального стресса более выражены у самок, чем у самцов крыс. Вызванные внутриутробной стрессорной нагрузкой изменения физиологических показателей у потомства наблюдаются преимущественно в ранние периоды постнатального развития. Представленные факты расширяют имеющиеся сведения о физиологических механизмах, лежащих в основе формирования отрицательных последствий внутриутробного стресса у млекопитающих в разные периоды постнатального онтогенеза. Полученные данные могут быть перспективны в плане разработки новых подходов к оценке состояния и коррекции здоровья детей в период раннего детства и в подростковом возрасте.

## **ВЫВОДЫ**

1. Животные, подвергнутые внутриутробной стрессорной нагрузке, характеризуются сниженной двигательной активностью в тесте «открытое поле» на 21-е сутки постнатального развития. В отличие от интактных крыс, пренатально стрессированные особи демонстрируют постепенное возрастание индекса активности в открытом поле от раннего к более старшему возрасту: самцы – на 60-е, самки – на 30-е и 60-е сутки жизни.

2. Самцы крыс на 60-е сутки жизни после внутриутробного стресса характеризуются снижением уровня тревожности по показателям пребывания в рукавах приподнятого крестообразного лабиринта в сравнении с интактными животными. Стрессированные самки демонстрируют подавление исследовательской активности и рост тревожности в ранние периоды постнатального онтогенеза, что подтверждается снижением количества свешиваний и заходов в открытые рукава лабиринта, а также увеличением числа заходов в закрытые рукава на 21-е и 30-е сутки жизни соответственно.

3. Объемы потребления кислорода, выделения углекислого газа и уровень теплопродукции у самцов животных, подвергнутых внутриутробному стрессу, снижаются в более ранние сроки, чем у интактных особей – на 30-е сутки жизни,

достигая наименьших значений к 60-м суткам онтогенеза. У пренатально стрессированных самок возраст-зависимые изменения указанных метаболических параметров аналогичны таковым в контрольных группах.

4. Внутриутробная стрессорная нагрузка у крыс не влияет на уровень провоспалительного цитокина ИЛ-6, но приводит к снижению концентрации противовоспалительного ИЛ-4 в крови как у самок (21-е сутки), так и у самцов (30-е сутки жизни) по сравнению с интактными особями. Стрессированные самки характеризуются отсутствием выявленного в норме возраст-зависимого уменьшения содержания ИЛ-4, а также повышенным уровнем цитокинов на 60-е сутки жизни: ИЛ-4 – по сравнению с контролем, ИЛ-6 – по сравнению с ранним возрастным периодом.

5. Корреляции между параметрами поведения и метаболизма у пренатально стрессированных крыс выявлены в более раннем возрасте – на 21-е сутки жизни – по сравнению с контролем. В отличие от интактных особей, после внутриутробного стресса у самцов более старшего возраста взаимосвязи между данными показателями отсутствуют, а у самок на 60-е сутки развития меняют свою направленность и характер.

6. После внутриутробного стресса у самцов выявлены взаимосвязи уровня провоспалительного цитокина ИЛ-6 крови: обратные – с показателями поведения на 21-е и 30-е сутки, прямые – с параметрами метаболизма на 60-е сутки жизни. У пренатально стрессированных самок на 30-е сутки развития обнаружены отсутствующие в норме отрицательные корреляции содержания противовоспалительного ИЛ-4 с показателями обменных процессов.

7. Пренатальная стрессорная нагрузка, вызванная принудительным плаванием материнских особей во время беременности, приводит к снижению двигательной активности и сдвигу цитокинового профиля крови у потомства. Самки крыс в этих условиях характеризуются более значимыми изменениями, что проявляется в росте уровня тревожности, подавлении исследовательской активности, модификации взаимосвязей поведенческих и метаболических параметров. Вызванные внутриутробным стрессом изменения изученных показателей у потомства животных более выражены в относительно ранние периоды постнатального онтогенеза, чем у особей старшего возраста.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### *Статьи в журналах, рецензируемых ВАК*

1. **Мартюшева А.С.** Корреляционные взаимосвязи между физиологическими показателями у внутриутробно стрессированных крыс в разные периоды постнатального онтогенеза / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю., Абрамова А.Ю.,



Перцов С.С. // Патогенез. – 2022. – Т. 20. – № 3. – С. 109-110.

2. **Мартюшева А.С.** Изменение метаболических показателей у крыс в разные возрастные периоды после пренатального стресса / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю., Абрамова А.Ю., Алексеева И.В., Перцов С.С. // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. – 2022. – Т. 30. – № 4. – С. 471-480.

3. **Мартюшева А.С.** Поведение внутриутробно стрессированных крыс в тесте "приподнятый крестообразный лабиринт" в разные периоды постнатального онтогенеза / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю., Абрамова А.Ю., Перцов С.С. // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2022. – Т. 174. – № 9. – С. 268-273.

4. **Мартюшева А.С.** Возрастные и гендерные особенности показателей цитокинового профиля крови у крыс после пренатального стресса / Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., Ратмиров А.М., Абрамова А.Ю., Алексеева И.В., Перцов С.С. // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2022. – Т. 174. – № 9. – С. 278-283.

#### *Материалы в журналах и сборниках конференций*

5. **Мартюшева А.С.** Исследование влияния пренатального стресса на показатели интенсивности метаболизма у крыс в постнатальном периоде / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю. // Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин : Сборник научных трудов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием молодых ученых, аспирантов, студентов / Под ред. Л.А. Балыковой, Л.В. Матвеевой. Часть 1 – Саранск: Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва. – 2021. – С. 136-138.

6. **Мартюшева А.С.** Поведение пренатально стрессированных крыс в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю., Перцов С.С. // Медицинская наука в эру цифровой трансформации : сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, Курск, 10 декабря 2021 года. – Курск: КГМУ. – 2021. – С. 203-205.

7. **Мартюшева А.С.** Изменение интенсивности метаболизма у крыс в постнатальном периоде после внутриутробного стресса / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю., Перцов С.С. // Физиология и физика в современной медицине: сборник материалов, Москва, 14 апреля 2022 года. – Москва: МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. – 2022. – С. 64-65.

8. **Мартюшева А.С.** Влияние внутриутробного стресса на физиологические показатели самцов и самок крыс в различные периоды постнатального онтогенеза / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю., Перцов С.С. // Современные проблемы системной регуляции физиологических функций: Тезисы докладов IV Междисциплинарной конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения академика К.В. Судакова, Москва, 06–08 июля 2022 года. – Москва: ФГБНУ

«НИИНФ им. П.К. Анохина». – 2022. – С. 327-328.

9. **Мартюшева А.С.** Корреляционные связи между показателями поведения и метаболизма у крыс в разные периоды постнатального онтогенеза после внутриутробной стрессорной нагрузки / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю., Абрамова А.Ю., Перцов С.С. // Медицинская физика, физиология и смежные дисциплины в академической и вузовской науке : Сборник тезисов конференции с международным участием, посвящённой 100-летию МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, 17–18 ноября 2022 года. – Москва: МГМСУ им. А.И. Евдокимова. 2022. – С. 274-277.

10. **Мартюшева А.С.** Поведение самцов и самок крыс в тесте «открытое поле» после пренатального стресса / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю., Перцов С.С. // Достижения и проблемы фундаментальной науки и клинической медицины: Материалы 69-й международной научно-практической конференции, посвященной 30-летию Государственной независимости Республики Таджикистан... Душанбе, 17 ноября 2021 года. – Душанбе: ГОУ ТГМУ им. Абуали Ибни Сино. 2021. – С. 626-627.

11. **Мартюшева А.С.** Влияние пренатального стресса на поведение крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» / Мартюшева А.С., Субботина А.Ю. // Актуальные проблемы биологии развития: Материалы конференции молодых ученых. Москва, 12 - 14 октября 2021 года. – Москва: ИБР РАН. 2021. – С. 46-47.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- ИА – индекс активности в открытом поле
- ИЛ-\*(цифровой или буквенный символ) – интерлейкин-(цифровой или буквенный символ)
- ИФА – иммуноферментный анализ
- Н – интенсивность тепловыделения
- ПКЛ – приподнятый коестообразный лабиринт
- ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли-альфа
- N-ВертСт – число вертикальных стоек в ПКЛ
- N-ЗакРук – число заходов в закрытые рукава ПКЛ
- N-ОткРук – число заходов в открытые рукава ПКЛ
- N-Свеш – число свешиваний с открытых рукавов ПКЛ
- T-ЗакРук – общее время нахождения в закрытых рукавах ПКЛ
- T-ОткРук – общее время нахождения в закрытых рукавах ПКЛ
- VCO<sub>2</sub> – объем выдыхаемого углекислого газа
- VO<sub>2</sub> – объем потребляемого кислорода