

На правах рукописи

СМОЛЕНСКИЙ  
Илья Вадимович

**Влияние пренатального стресса на формирование  
гормональных и поведенческих нарушений у самцов крыс в  
модели посттравматического стрессового расстройства**

03.03.01 – физиология

Автореферат  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

*Санкт-Петербург-2018*

Работа выполнена в лаборатории нейроэндокринологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук и лаборатории молекулярных механизмов нейронных взаимодействий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук.

**Научный руководитель:**

**Ордян Наталья Эдуардовна**, доктор биологических наук, заведующая лабораторией нейроэндокринологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии им. И.П. Павлова РАН

**Официальные оппоненты:**

**Ватаева Людмила Анатольевна**, доктор биологических наук, профессор кафедры клинической психологии и психологической помощи Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена

**Цикунов Сергей Георгиевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией психофизиологии эмоций Физиологического отдела им. И.П. Павлова Федерального научного бюджетного учреждения «Институт экспериментальной медицины»

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ ИЦиГ СО РАН), Новосибирск.

Защита состоится «18» декабря 2018 года в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 002.127.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук по адресу 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44, тел. (812)-552-79-01, электронная почта office@iephb.ru, сайт <http://www.iephb.ru>.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИЭФБ РАН (Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44), с авторефератом – на сайте ВАК РФ, с авторефератом и диссертацией – на сайте ИЭФБ РАН: <http://www.iephb.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_» октября 2018 года

Ученый секретарь диссертационного совета, д.б.н.  Р.Г. Парнова

**Актуальность проблемы.** По соотношению распространенности в популяции с одной стороны и сложности лечения с другой стороны посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) занимает лидирующие позиции среди психических и неврологических расстройств, уступая лишь нейродегенеративным заболеваниям. Распространенность ПТСР среди населения различается в разных странах – от 1,3% в Японии до 8,8% в Северной Ирландии. В развитых странах основной причиной развития ПТСР является сексуальное и физическое насилие, а также утрата близкого человека, тогда как в наименее развитых странах – войны и природные катаклизмы (Atwoli и др., 2015). Также только в развитых странах прослеживается корреляция риска развития ПТСР с социо-демографическими факторами – уровнем образования (Carmassi и др., 2014), возрастом, полом (выше у женщин), профессией (выше у безработных) (Ferry и др., 2014). В повышенной зоне риска развития ПТСР находятся представители силовых ведомств – военные и полицейские, а также спасатели. Распространенность ПТСР среди 1938 участников военных операций США в Ираке и Афганистане составила 13,8% (Tanielian и др., 2008), а среди американских полицейских – от 3 до 17 % (Robinson и др., 1997). Высокая вероятность развития ПТСР у людей, переживших теракты, такие как 11 сентября 2001 года во Всемирном торговом центре в США (Yehuda и др., 2009), у пострадавших во время войн и Холокоста (Yehuda и др., 1995b). Среди всех тревожных расстройств ПТСР занимает первое место по объему медицинских расходов (Marciniak и др., 2005). На сегодняшний день основной подход к лечению ПТСР – психотерапия, в первую очередь когнитивно-поведенческая терапия (КПТ) (Reisman, 2016). Отсутствие четкого понимания патогенетических механизмов ПТСР препятствует разработке специфичных фармакологических препаратов для его терапии, в результате единственными допущенными препаратами для лечения ПТСР являются антидепрессанты из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина сертралин и пароксетин, эффективность которых во многих случаях невысока (Jeffreys, 2016). Препараты второго выбора – трициклические антидепрессанты и ингибиторы моноаминоксидазы, показали еще более низкую эффективность и больше побочных эффектов (Davis и др., 2004; McRae и др., 2004; Schneier и др., 2015).

Поскольку действие стрессорных факторов приводит к изменению работы не только нервной (McEwen, 2007), но и эндокринной (Selye, 1974) и иммунной систем (Glaser и Kiecolt-Glaser, 2005), то его влияние, опосредованное гормонами и цитокинами, проходящими через плаценту, может передаваться плоду (Weinstock, 2001). В результате у потомства матерей, переживших сильный стресс во время беременности, могут наблюдаться нарушения в поведении, функционировании эндокринной и нервной систем, иммунный дефицит, снижение антиоксидантной защиты и общее нарушение развития. Все эти факторы приводят к снижению адаптивных ресурсов организма и устойчивости к стрессорным воздействиям, что проявляется в увеличении предрасположенности к неврологическим и психическим расстройствам широкого спектра, в том числе тревожно-депрессивным (Seckl и Meaney, 2006). В клинических и экспериментальных исследованиях многократно показано, что пренатально (т.е. в период внутриутробного развития) стрессированные потомки отличаются от контрольных сверстников повышенной тревожностью и активностью, асоциальным и агрессивным поведением (Davis и Sandman, 2012; Wakshlak и Weinstock, 1990). Также у таких потомков усиливается активность гормональной системы «гипоталамус-гипофиз-надпочечники» (ГГАС), в результате которой ее центральные звенья становятся менее чувствительными к сигналам отрицательной обратной связи от периферических глюкокортикоидных гормонов. Нарушение работы ГГАС потомков в результате действия пренатального стресса усиливает их предрасположенность к постстрессовым тревожно-депрессивным расстройствам, в том числе ПТСР.

Несмотря на бесспорную актуальность вопроса о совместном влиянии пренатального стресса и ПТСР на работу нейроэндокринной системы потомства, в мировой литературе полностью отсутствуют работы с экспериментальным изучением протекания ПТСР на фоне пренатального стресса в моделях на лабораторных животных. Хотя в ряде работ R.Yehuda оценивается влияние фактора развития ПТСР у родителей на вероятность развития ПТСР у их детей (Yehuda и др., 2000, 2001, 2008), в них речь идет больше о генетических факторах развития

ПТСР, чем о прямом влиянии расстройства у родителей на здоровье потомков. Единственными публикациями на эту тему являются работы лаборатории нейроэндокринологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, причем выполненные не только на самцах, но и на самках крыс (Ordyan и др., 2014; Pivina и др., 2014; Mironova и др., 2017).

Понимание нейроэндокринных и молекулярных механизмов патогенеза ПТСР откроет новые возможности для фармакологической терапии этого заболевания. Один из путей изучения патогенеза ПТСР – эксперименты по совместному влиянию пренатальных и постнатальных стрессорных воздействий. Так, известно, что пренатальный стресс приводит к активации ГГАС с увеличением базального уровня кортикостерона и со снижением плотности кортикостероидных рецепторов в гиппокампе и, как следствие, к нарушению торможения по механизму отрицательной обратной связи (ООС) (Weinstock, 2001). В то же время при ПТСР наблюдаются противоположные изменения – снижение базального уровня кортикостерона, увеличение плотности рецепторов и усиление ООС (Yehuda, 2002). Представляется интересным результат взаимодействия двух факторов с такими противоположными эффектами, с целью чего в работе ПТСР было смоделировано на крысах, ранее подвергшихся стрессорному воздействию в пренатальном периоде онтогенеза.

**Цель исследования** – изучение влияния материнского стресса во время беременности на психоэмоциональные, нейрогормональные и биохимические нарушения у потомства при формировании постстрессового состояния в модели посттравматического стрессового расстройства у самцов крыс.

**Задачи исследования:**

1. Изучить поведенческие проявления постстрессового расстройства в модели ПТСР у контрольных и пренатально стрессированных (ПС) самцов крыс по изменению уровня тревожности и депрессивноподобного поведения.
2. Оценить профиль активности гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС) в ходе формирования постстрессового расстройства в модели ПТСР у контрольных и ПС самцов крыс.
3. Изучить динамику содержания кортиколиберина и вазопрессина в паравентрикулярном ядре гипоталамуса (ПВЯ) контрольных и ПС самцов крыс в ходе формирования постстрессового расстройства в модели ПТСР.
4. Изучить динамику количества глюкокортикоидных (ГР) и минералокортикоидных (МР) рецепторов в гиппокампе контрольных и ПС самцов крыс в ходе формирования постстрессового расстройства в модели ПТСР.
5. Оценить уровень окислительных модификаций белков и активность антиоксидантной системы в крови и структурах головного мозга контрольных и ПС самцов крыс в ходе формирования постстрессового расстройства в модели ПТСР.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Пренатально стрессированные животные в модели ПТСР формируют тревожно-депрессивное состояние, сопровождающееся длительным снижением уровня глюкокортикоидных гормонов в крови.
2. На фоне пренатального стресса усиление отрицательной обратной связи ГГАС, характерное для посттравматического стрессового расстройства, выражено сильнее, сохраняется в течение более длительного срока и сопровождается увеличением содержания в гиппокампе высокоаффинных минералокортикоидных рецепторов, а не низкоаффинных глюкокортикоидных рецепторов.
3. Пренатальный стресс способствует ускоренному запуску процессов окислительной модификации белков и подавлению активности супероксиддисмутазы в модели ПТСР.

**Научная новизна работы.** Впервые показано, что моделирование ПТСР на фоне пренатального стресса приводит к формированию состояния смешанного тревожно-депрессивного, а не чисто тревожного характера. Установлено, что базальный уровень кортикостерона при ПТСР может как снижаться, так и оставаться неизменным, тем не менее, только у пренатально стрессированных крыс формирование ПТСР-подобного состояния

сопровождается его снижением. Увеличение чувствительности ГГАС к сигналам отрицательной обратной связи, характерное для ПТСР, также сохраняется дольше на фоне пренатального стресса, выражено сильнее, проявляясь даже в отсутствие экзогенной нагрузки. Параллельно со снижением уровня кортикостерона в крови в ходе моделирования ПТСР у ПС крыс снижается содержание кортиколиберина и вазопрессина в ПВЯ гипоталамуса. Впервые выявлено, что изменение содержания кортикостероидных рецепторов в поле СА1 гиппокампа у ПС животных имеет иную динамику в ходе моделирования ПТСР – увеличение содержания высокоаффинных минералокортикоидных, а не низкоаффинных глюкокортикоидных рецепторов, что может быть причиной как сниженной базальной активности ГГАС, так и более сильного усиления отрицательной обратной связи в этой гормональной оси.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты, изложенные в настоящей работе, расширяют знание о трех важных патологических процессах: 1) патогенное влияние пренатальных стрессорных воздействий на здоровье потомства; 2) патогенез посттравматического стрессового расстройства; 3) совместное влияние пренатального стресса и посттравматического стрессового расстройства на функционирование нейроэндокринной системы, уровень окислительного стресса и антиоксидантной защиты.

Изучение проявлений совместного действия пренатального стресса и посттравматического стрессового расстройства позволяет приблизиться к пониманию нейрофизиологических механизмов, лежащих в основе парадоксальных изменений в работе ГГАС, характерных для клинической картины ПТСР – снижение уровня глюкокортикоидов в крови и усиление торможения ГГАС по механизму отрицательной обратной связи. Различия в нарушениях работы вазопрессин- и кортиколиберинергических систем мозга, изменениях плотности кортикостероидных рецепторов в клетках гиппокампа у пренатально стрессированных животных свидетельствуют о специфических особенностях протекания патологического состояния в модели ПТСР.

С практической точки зрения полученные в работе результаты об особенностях формирования ПТСР-подобного состояния у пренатально стрессированных животных могут способствовать усовершенствованию методов фармакологической коррекции посттравматических психопатологий у людей, имеющих в анамнезе стрессорное состояние их матерей во время беременности.

**Методология и методы исследования.** Для моделирования ПТСР в работе использовали парадигму «стресс-рестресс», заключающуюся в предъявлении животному тяжелого комбинированного стрессорного воздействия с повторным стрессированием (рестресс) через 7 дней. В качестве рестресса применяли один из типов стрессорного воздействия, который использовали при процедуре комбинированного стрессирования, но меньшей интенсивности. Моделирование пренатального стресса осуществляли путем воздействия на беременных крыс иммобилизационного стресса с 15 по 19 день гестации. В работе использовали различные поведенческие методы для определения уровня тревожности и выраженности депрессивно-подобного поведения, радиоиммунный анализ уровня кортикостерона в плазме крови, иммуногистохимический метод для определения экспрессии кортиколиберина и вазопрессина в ПВЯ гипоталамуса, а также уровня ГР и МР в гиппокампе, биохимические методы для определения окислительной модификации белков и активности фермента антиоксидантной защиты (Cu,Zn-супероксиддисмутазы).

**Апробация работы.** Результаты работы были представлены и обсуждались на Конференции молодых ученых «Механизмы адаптации физиологических систем организма к факторам среды» (Санкт-Петербург, 2010); XVIII Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные вопросы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2012); II Всероссийской конференции «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия» (Санкт-Петербург, 2012); XV Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей с международным участием «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2012); Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и висцеральных

систем», посвященной 90-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 2015); XV Всероссийском совещании с международным участием и VIII школе по эволюционной физиологии, посвященных памяти академика Л.А. Орбели и 60-летию ИЭФБ РАН (Санкт-Петербург, 2016); XXIII Съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Воронеж, 2017); на семинарах лаборатории нейроэндокринологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН и лаборатории молекулярных механизмов нейронных взаимодействий Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН.

**Публикации.** Результаты, представленные в диссертации, опубликованы в 3 статьях в журналах, рекомендованных ВАК для опубликования результатов диссертационных исследований, 6 работ опубликовано в материалах научных конференций. Список публикаций представлен в конце автореферата диссертации.

**Личный вклад автора.** Автор лично проводил все экспериментальные манипуляции с животными – пренатальное стрессирование, моделирование ПТСР, оценку поведенческих нарушений, а также всю компьютерную обработку – анализ иммунореактивности гистологических срезов и статистический анализ результатов. Сотрудники лаборатории нейроэндокринологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (С.Г. Пивина, В.В. Ракицкая, А.В. Притворова) помогли автору в проведении радиоиммунного, иммуногистохимических и биохимических исследований и являются соавторами соответствующих публикаций.

**Объём и структура диссертации.** Работа изложена на 135 страницах текста и состоит из введения, методики исследований, результатов, их обсуждения, заключения и выводов. Диссертация проиллюстрирована 7 таблицами и 27 рисунками. Список цитируемой литературы насчитывает 429 источников— 36 русскоязычных и 393 англоязычных.

### **Материалы и методы исследований**

**Экспериментальные животные и использованные модели.** В работе использовались половозрелые крысы Вистар (N=242), выращенные в виварии Института физиологии имени И. П. Павлова РАН. Крысы содержались в стандартных условиях при свободном доступе к пище и воде. Для моделирования пренатального стресса беременных самок крыс подвергали ежедневной 60-минутной иммобилизации в пластиковых пеналах с 15 по 19 дни беременности (0 день – обнаружение сперматозоидов в мазках) – в критический период для формирования нейроэндокринных механизмов стрессореактивности. Для моделирования ПТСР в парадигме «стресс-рестресс» 3-месячных самцов крыс (контрольных и ПС) подвергали тяжелому комбинированному стрессу – двухчасовой иммобилизации, 20-минутному вынужденному плаванию и, после 15-минутного перерыва, эфирному стрессу до потери сознания, а через 7 дней рестрессу – 30-минутной иммобилизации. В разных сериях экспериментов оценивались поведенческие, гормональные, гистологические и биохимические показатели тревожно-депрессивного расстройства в модели ПТСР спустя 1, 10, 20 и 30 дней после рестресса. Были сформированы следующие экспериментальные группы, состоящие из взрослых самцов крыс: «Контроль без ПТСР», «Контроль-ПТСР 1 день», «Контроль-ПТСР 10 дней», «Контроль-ПТСР 20 дней», «Контроль-ПТСР 30 дней», «ПС без ПТСР», «ПС-ПТСР 1 день», «ПС-ПТСР 10 дней», «ПС-ПТСР 20 дней», «ПС-ПТСР 30 дней». При проведении экспериментов соблюдались требования, сформулированные в Директивах Совета Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании лабораторных животных. Протоколы опытов были утверждены Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

**Методы исследования психоэмоционального состояния крыс.** В приподнятом крестообразном лабиринте оценивался уровень тревожности (время, проведенное в освещенных открытых рукавах – конфликт мотивации страха и исследовательского поведения). В тесте вынужденного плавания Порсолта (время неподвижности – отражает поведенческое отчаяние при невозможности выбраться из воды комнатной температуры) оценивалось выраженность депрессивноподобного поведения.

**Методы оценки активности ГГАС.** Для определения базального уровня кортикостерона за день до забора крови крысы рассаживались по 2 особи в каждую клетку. На следующий день с 12 до 13 часов у них отбиралась кровь из хвостовой вены. Базальный уровень гормонов определялся у крыс без моделирования ПТСР, а также через 10 дней и через 30 дней после рестресса. Для оценки быстрой отрицательной обратной связи (ООС) в ГГАС кровь отбиралась через 30 и 60 минут (у разных крыс) после начала 30-минутной иммобилизации – во время рестресса и 30 дней спустя. Для проведения нагрузочного теста часть крыс перед рестрессом получала инъекции синтетического глюкокортикоида гидрокортизона (0,3 мг/кг, GedeonRichter, Венгрия), усиливающего торможение ГГАС. Уровень кортикостерона в плазме крови оценивали радиоиммунным методом по конкурентному связыванию меченного и немеченного гормона с антителами и оценке радиоактивности образующегося комплекса меченного гормона с антителами.

**Иммуногистохимические методы уровня нейрогормонов и кортикостероидных рецепторов.** Головной мозг фиксировали в параформальдегиде, проводили по спиртам, ксилолам и парафинам, заливали в парафиновые блоки и изготавливали фронтальные срезы через гиппокамп (для оценки количества кортикостероидных рецепторов) и через ПВЯ гипоталамуса (для оценки содержания кортиколиберина и вазопрессина). Далее проводилась иммуногистохимическая реакция с использованием первичных и вторичных антител к кортиколиберину (Santa Cruz Biotechnology Inc., США, 1:50), вазопрессину (Millipore Corp., США, 1:500), минералокортикоидным (Santa Cruz Biotechnology Inc., США, 1:100) и глюкокортикоидным (Santa Cruz Biotechnology Inc., США, 1:50) рецепторам, авидин-биотин-пероксидазного комплекса и диаминобензидина для визуализации. Срезы фотографировали с помощью светового микроскопа Jenaval (CarlZeiss, Германия) и цифровой камеры Baumer CX05c (Baumer Optronic, Германия). Полученные изображения обрабатывали в программе «ВидеоТест Морфология» («Видео Тест», Россия) для определения оптической плотности иммунореактивного вещества в клетках. В ПВЯ отдельно обрабатывали крупноклеточную и мелкоклеточную части, а в гиппокампе – поля СА1, СА3, СА4 и зубчатую извилину. Содержание нейрогормона в клетках ПВЯ или рецепторов в клетках гиппокампа описывали средним значением оптической плотности по всем срезам, средним количеством иммунопозитивных клеток и соотношением сильно- и слабопозитивных клеток.

**Биохимический анализ окислительной модификации белков (ОМБ).** После декапитации из черепа извлекали гипоталамус, гиппокамп и неокортекс, а также забирали кровь. Окислительную модификацию белков оценивали в двух формах – спонтанной (СОМБ, показатель окислительного стресса) и индуцированной реактивом Фентона (ФОМБ, показатель количества субстрата для окисления и, таким образом, устойчивости системы к переокислению). После гомогенизации и осаждения нуклеиновых кислот к пробам добавляли натрий-калий-фосфатный буфер (для определения СОМБ) или реактив Фентона (для определения ФОМБ) и обрабатывали 2,4-динитрофенилгидразином для выявления продуктов ОМБ. После центрифугирования и высушивания к пробам добавляли мочевины, а концентрацию продуктов окисления – карбонильных производных, определяли спектрофотометрически на длине волны 270 нм (стадия инициации, окисление полярных аминокислот) или 363 нм (стадия элонгации, окисление неполярных аминокислот). Количество продуктов ОМБ выражали в единицах оптической плотности, рассчитанной на 1 мг белка.

**Биохимический анализ активности супероксиддисмутазы (СОД).** Активность Cu,Zn супероксиддисмутазы в гиппокампе, неокортексе (СОД1) и плазме крови (СОД3) определяли по методу Чевари (Чевари и др., 1985) с дополнениями (Арутюнян и др., 2000). Использовали разведенную физиологическим раствором плазму или супернатант от гомогенизации и центрифугирования ткани головного мозга. Принцип метода основан на генерации  $O_2^{\cdot-}$  в ходе окислительно-восстановительных реакций в системе, состоящей из НАДН, феназин-метасульфата (ФМС) и нитросинеготетразолия (НСТ). В результате аэробных реакций НАДН и ФМС происходит восстановление ФМС с образованием  $O_2^{\cdot-}$ , взаимодействуя с которым НСТ восстанавливается с образованием гидразинтетразолия, окрашенного в синий цвет. СОД

конкурирует с НСТ за  $O_2^-$ , в результате чего процент восстановления НСТ снижается. Основная реакция взаимодействия НАДН и ФМС достигает равновесия в течение 10 мин и, соответственно детерминирует равновесие ферментной реакции. Торможение реакции, равное 50% принимали за одну условную единицу активности фермента, результаты выражали в УЕ/мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури.

**Статистическая обработка данных.** Статистическая обработка результатов поведенческих тестов проводилась критерием Манна-Уитни путем сравнения каждой группы с моделированием ПТСР и соответствующей группы без моделирования ПТСР. Результаты гормональных, гистологических и биохимических исследований обрабатывались методом двухфакторного дисперсионного анализа по факторам «пренатальный стресс» (контроль или ПС) и «посттравматическое стрессовое расстройство» (без ПТСР, ПТСР 1 день, ПТСР 10 дней, ПТСР 20 дней и ПТСР 30 дней в разных экспериментах) с последующими парными сравнениями критерием Тьюки. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ , на гистограммах данные представлены в виде среднее  $\pm$  ошибка среднего. Для обработки использовалась программа Statistica 8.0 (StatSoftInc., США).

## Результаты и обсуждение

### Оценка психоэмоционального состояния крыс при моделировании ПТСР.

*Приподнятый крестообразный лабиринт.* Пренатально стрессированные крысы демонстрируют большее время, проведенное в открытых рукавах лабиринта (рис. 1, А), что свидетельствует о более низком уровне тревожности, чем у контрольных животных. Причиной снижения уровня тревожности у ПС самцов может быть нарушение метаболизма мужских половых гормонов, вызванного увеличением активности в мозге фермента ароматазы, превращающего тестостерон в эстрадиол. Таким образом, пренатальный стресс стирает межполовые различия в уровне тревожности, приближая более тревожных самцов к менее тревожным самкам (Ордян и др., 2006). Через 10 дней после рестресса в обеих группах происходит снижение времени пребывания в открытых рукавах. Через 20 дней после рестресса в контрольной группе поведение не отличается от поведения крыс без ПТСР, т.е. происходит восстановление уровня тревожности, а у ПС крыс и через 20 дней он остается повышенным.

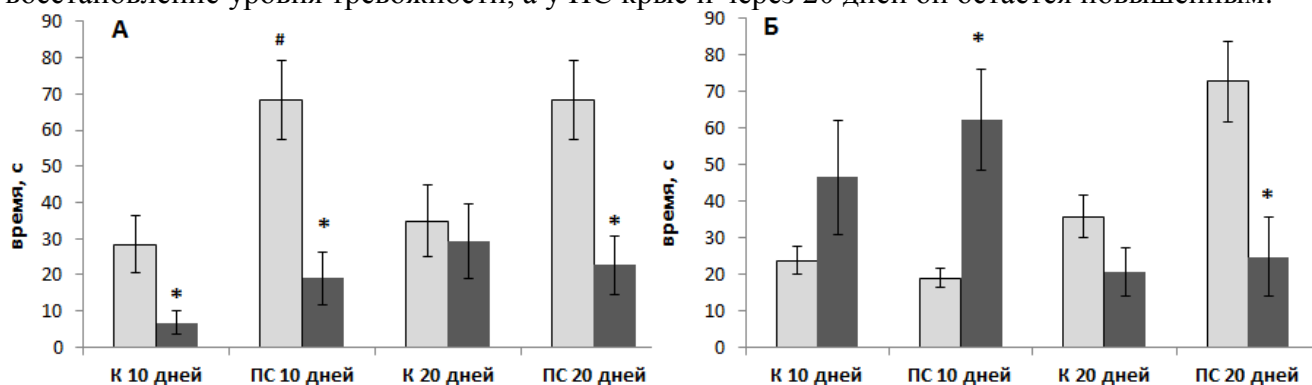


Рисунок 1. Поведение крыс в ходе моделирования ПТСР. А – время в открытых рукавах открытого поля, Б – время неподвижности в тесте Порсолта. Светлые столбики – группы без ПТСР, темные столбики – группы с ПТСР. \* - отличия от группы «без ПТСР»,  $p < 0.05$ , # - достоверные различия между контролем и ПС,  $p < 0.05$ .

*Тест «вынужденное плавание» Порсолта.* В тесте вынужденного плавания Порсолта контрольные и ПС крысы не различаются по выраженности депрессивноподобного поведения (рис. 1, Б), в отличие от поведения в приподнятом крестообразном лабиринте. Через 10 дней после рестресса и у контрольных, и у ПС крыс снижалось время активного плавания. У ПС это сопровождалось также увеличением времени неподвижности, что говорит об усилении только у них депрессивноподобного поведения. Через 20 дней после рестресса время активного плавания не отличается от крыс без ПТСР ни у контрольной, ни у ПС группы. При этом у ПС крыс время



неподвижности снижается, в противоположность картине через 10 дней, за счет 2-кратного увеличения времени пассивного плавания.

Таким образом, у контрольных крыс в модели «стресс-рестресс» формируется патологическое состояние тревожного профиля, соответствующее клинической картине ПТСР, относящемуся к группе тревожных расстройств по классификации DSM-V. При этом у ПС самцов развивается смешанное тревожно-депрессивное расстройство, признаки которого сохраняются более длительное время, чем у контрольных.

### Оценка активности ГГАС при моделировании ПТСР.

Базальный уровень концентрации кортикостерона ( $F_{2,52}=9,2$ ,  $p<0,001$ , рис. 2) у ПС крыс изначально более чем в 2 раза **выше**, чем у контрольных. Причиной повышения уровня глюкокортикоидов в плазме крови считают проникновение стрессорных гормонов из материнского организма в плод и активацию его собственной ГГАС (Weinstock, 2001). Через 10 и через 30 дней после рестресса у контрольных животных базальный уровень концентрации кортикостерона не отличается от такового у крыс без моделирования ПТСР. У ПС крыс он более чем в 2 раза **снижен** как через 10 дней, так и через 30 дней. Хотя клиническая картина ПТСР может сопровождаться как нормальным, так и сниженным уровнем кортизола в крови, снижение базального уровня кортизола все же считается одним из диагностических признаков ПТСР, так как характерно только для данной патологии (Yehuda, 2002). В данном исследовании у контрольных крыс формирование расстройства не сопровождалось изменениями базального уровня концентрации кортикостерона, тогда как у ПС крыс концентрация кортикостерона снижалась после рестресса вдвое и оставалась сниженной даже через месяц. Таким образом, хотя оба варианта динамики глюкокортикоидных гормонов укладываются в клиническую картину ПТСР, столь явное отличие ПС крыс по этому показателю показывает долгосрочное влияние пренатального стресса на гормональный профиль развития данной патологии.

Уникальность клинической картины ПТСР – усиление чувствительности ГГАС к сигналам отрицательной обратной связи. У пациентов с ПТСР, несмотря на выраженные гормональные нарушения и дисрегуляцию ГГАС, показатели дексаметазонового теста остаются неизменными, либо даже повышенными (Yehuda и др., 1995a). Оказалось, что при ПТСР после быстрой и интенсивной инициации, активационная фаза реакции ГГАС не развивается дальше, а резко сменяется инактивационной фазой и торможением выброса глюкокортикоидов. Такой гормональный профиль ПТСР, по-видимому, представляет собой специфическую характеристику ПТСР, и при других патологиях не описан (Yehuda, 2002). Повышенная стрессореактивность при ПТСР в сочетании быстрым торможением ГГАС уже на ранних стадиях нарушает ее нормальную динамику реакции и, следовательно, проадаптивные функции. Показаны такие изменения и в экспериментальной модели ПТСР «стресс-рестресс» (Liberzon и др., 1997; Harvey и др., 2003; Рыбникова и др., 2010).

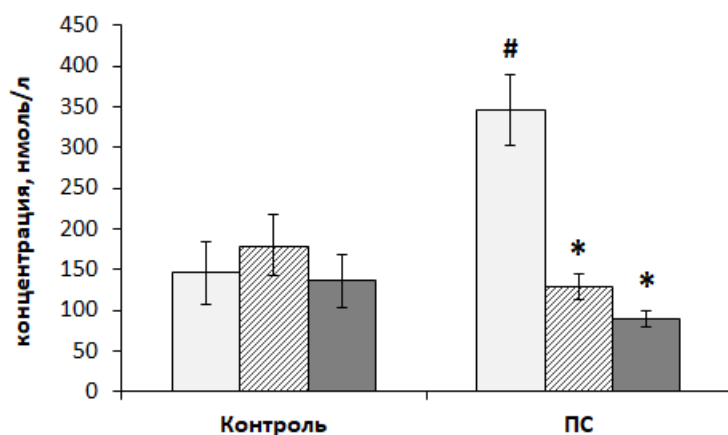


Рисунок 2. Базальный уровень концентрации кортикостерона в плазме крови. Светлые столбики – «без ПТСР», заштрихованные столбики – «ПТСР 10 дней», темные столбики – «ПТСР 30 дней». \* - отличие от группы «без ПТСР»,  $p<0.005$ , # - различие между контролем и ПС,  $p<0.001$ , критерий Тьюки.

В ходе рестресса после предварительной нагрузки экзогенным глюкокортикоидом гидрокортизоном у контрольных и ПС крыс происходит торможение ГГАС по механизму быстрой ООС – уровень кортикостерона через 60 минут достоверно ниже, чем через 30 (рис. 3, Б). При этом у ПС, но не у контрольных крыс при моделировании ПТСР включение торможения ГГАС происходит даже в отсутствие нагрузки гидрокортизоном (рис. 3, А). Быстрая ООС является ключевым диагностическим признаком ПТСР в клинике, и ее включение без дополнительного провокатора говорит о более сильной выраженности патологической активности ГГАС.

Через 30 дней после рестресса при 30-минутной иммобилизации без предварительного введения гидрокортизона (рис. 3, В) снижение концентрации кортикостерона через 60 минут вновь наблюдалось только у ПС крыс. Это говорит о том, что гормональные нарушения при моделировании ПТСР (включение быстрой ООС) у ПС крыс не только выражены сильнее, но и сохраняются более длительное время.

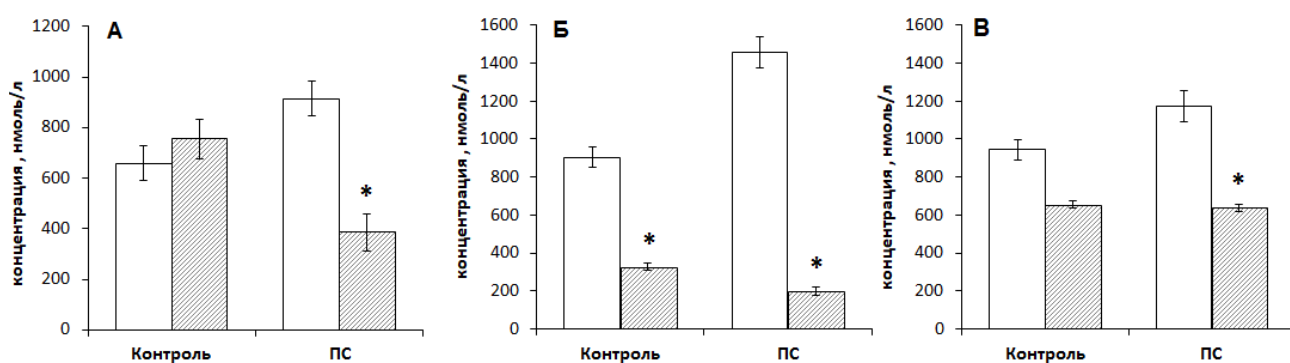


Рисунок 3. Концентрация кортикостерона в плазме крови крыс во время 30-минутной иммобилизации. А – рестресс без введения гидрокортизона, Б – рестресс с введением гидрокортизона, В – 30 дней после моделирования ПТСР без введения гидрокортизона. Белые столбики – через 30 мин, заштрихованные столбики – 60 мин после начала иммобилизации. \* - различия между значениями в 30 и 60 мин,  $p < 0.001$ , критерий Тьюки.

### Содержание кортиколиберина и вазопрессина в паравентрикулярном ядре гипоталамуса.

Активация ГГАС у ПС крыс проявлялась не только на периферии в виде повышенного уровня кортикостерона, но и в ее центральном звене – ПВЯ гипоталамуса. Как в мелкоклеточной, так и в крупноклеточной частях ПВЯ отмечено повышение содержания кортиколиберина (кПВЯ:  $F_{3,72}=20,3$ ,  $p < 0,01$ , рис. 4, А; мПВЯ:  $F_{3,72}=18,7$ ,  $p < 0,01$ , рис. 4, Б) и вазопрессина (к ПВЯ:  $F_{2,106}=10,2$ ,  $p < 0,001$ , рис. 5, А; мПВЯ:  $F_{2,87}=8,8$ ,  $p < 0,01$ , рис. 5, Б) – ключевых нейрогормонов системы стрессорной реакции организма. Кортиколиберин называют «первым медиатором стресса», а вазопрессин кроме ряда висцеральных и психотропных эффектов играет роль функционального синергиста кортиколиберина в ГГАС. Из нейронов мПВЯ кортиколиберин вместе с вазопрессином выбрасываются в портальную гипоталамо-гипофизарную систему, достигают ПОМК-клеток аденогипофиза и стимулируют секрецию адренокортикотропного гормона, запуская работу ГГАС и секрецию глюкокортикоидов корой надпочечников. По аксонам нейронов кПВЯ вазопрессин и кортиколиберин транспортируется в нейрогипофиз, где они выбрасываются в системный кровоток, оказывая периферические эффекты. Таким образом, пренатальный стресс, увеличивая концентрацию кортиколиберина и вазопрессина в обеих частях ПВЯ, усиливает как аденогипофизарное, так и системное их действие.

Изменение содержания кортиколиберина и вазопрессина в ходе моделирования ПТСР, также имело различную динамику у контрольных и ПС крыс. Если у контрольных крыс с 1-го по 30-й день развития расстройства наблюдается увеличение содержания кортиколиберина (рис. 4), то у ПС крыс вслед за более значительным, чем у контрольных увеличением через 1 день происходит длительное снижение на 10-й и 30-й дни после рестресса. Концентрация вазопрессина не изменялась у контрольных крыс (рис. 5), при этом у ПС наблюдалось ее

длительное снижение спустя 10 и 30 дней после рестресса. Причиной резкого снижения уровня кортиколиберина и вазопрессина в ПВЯ может быть истощение их запасов в результате стрессорного выброса в системный кровоток. В данной работе не измерялся уровень этих гормонов в плазме крови, однако в клинических исследованиях показано увеличение концентрации вазопрессина в крови (de Kloet и др., 2008) и кортиколиберина в ликворе (Smith и др., 1989) пациентов с ПТСР. Если причина действительно в этом, то стоит отметить, что увеличение активности вазопрессинергической системы сопровождается увеличением у животных уровня тревожности, характерным для ПТСР (Uys и др., 2003). Для подтверждения предположения о стрессорном выбросе и дальнейшем снижении секреции нейрогормонов необходимы дополнительные исследования. Кроме того у ПС крыс уровень кортиколиберина и вазопрессина исходно был значительно повышен по сравнению с контрольными, поэтому мог интенсивнее и быстрее выбрасываться из ПВЯ в кровоток, повторно нарушая гомеостазис гормональной системы, адаптированной к повышенному уровню базальной секреции вазопрессина. Длительное снижение секреции кортиколиберина и вазопрессина в ПВЯ может говорить об общем истощении ГГАС у ПС крыс, проявляющемся также в снижении уровня кортикостерона в плазме крови через 10 и 30 дней – динамика изменения вазопрессина и кортикостерона в ходе развития расстройства практически совпадает как у контрольных, так и у ПС крыс. Увеличение же содержания кортиколиберина в мПВЯ повторяет многократно показанную ранее особенность не только ПТСР, но и других тревожно-депрессивных расстройств. Так, работами сотрудников лаборатории нейроэндокринологии было показано, что гиперсекреция кортиколиберина в ПВЯ гипоталамуса у самцов крыс наблюдается как при моделировании ПТСР в модели «стресс-рестресс», так и в модели меланхолической депрессии – парадигме «выученная беспомощность» (Миронова и др., 2004; Миронова и Рыбникова, 2008). Можно полагать, что гиперпродукция кортиколиберина является общим механизмом развития пострессовых психопатологий.

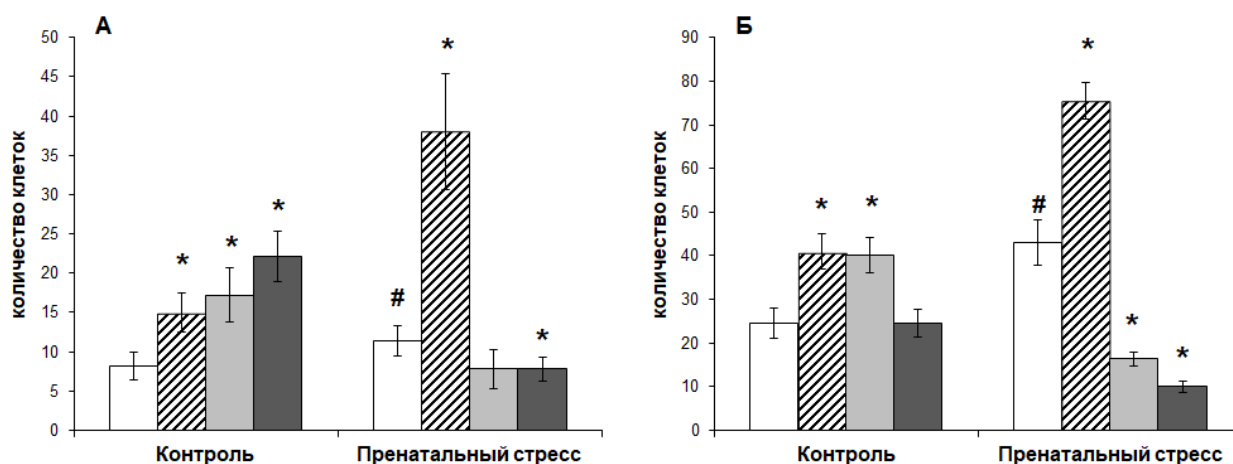


Рисунок 4. Количество кортиколиберин-позитивных клеток в паравентрикулярном ядре гипоталамуса. А – крупноклеточная часть, Б – мелкоклеточная часть. Белые столбики – «без ПТСР», заштрихованные столбики – «ПТСР 1 день», светлые столбики – «ПТСР 10 дней», темные столбики – «ПТСР 30 дней». # - различия между контрольными и ПС крысами,  $p < 0,05$ , \* - отличия от группы «без ПТСР»,  $p < 0,05$ .

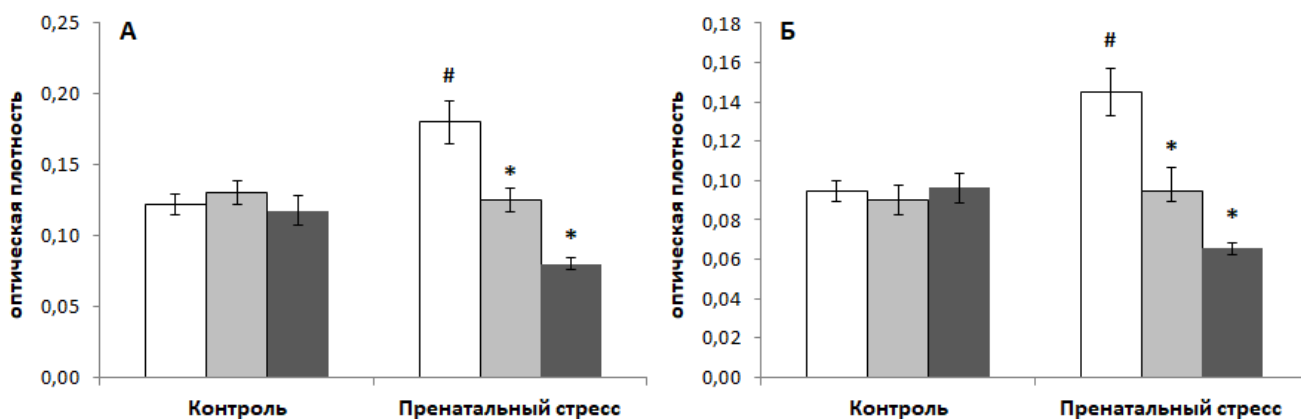


Рисунок 5. Содержание вазопрессина в клетках в паравентрикулярного ядра гипоталамуса. А – крупноклеточная часть, Б – мелкоклеточная часть. Белые столбики – «без ПТСП», заштрихованные столбики – «ПТСП 1 день», светлые столбики – «ПТСП 10 дней», темные столбики – «ПТСП 30 дней». # - различия между контрольными и ПС крысами,  $p < 0,05$ , \* - отличия от группы «без ПТСП»,  $p < 0,05$ .

### Содержание минералокортикоидных (МР) и глюкокортикоидных (ГР) рецепторов в нейронах гиппокампа.

ГАМК-ергические интернейроны гиппокампа формируют главный тормозный вход в ПВЯ и играют ключевую роль в торможении ГГАС по механизму отрицательной обратной связи (Reul и Kloet, 1985). Снижение количества кортикостероидных рецепторов в клетках гиппокампа является основной причиной снижения ООС, неоднократно показанной у ПС крыс (Herman и др., 1989b; Weinstock, 2001). В данной работе в полях гиппокампа содержание МР и ГР не различается у контрольных и ПС крыс, при этом в зубчатой извилине у ПС снижено содержание ГР ( $F_{1,27}=30$ ,  $p < 0,001$ , рис. 6, А).

Наиболее заметные изменения количества ГР и МР в ходе моделирования ПТСП обнаружены в поле СА1, а также в зубчатой извилине – двух зонах гиппокампа, наиболее богатых кортикостероидными рецепторами (Herman и др., 1989a). У контрольных и ПС крыс динамика содержания рецепторов различается (таб. 1) – в контроле через 10 дней после рестресса увеличивался уровень низкоаффинных ГР в поле СА1 ( $F_{2,28}=11,8$ ,  $p < 0,05$ , рис. 6, Б), при этом у ПС в те же сроки наблюдалось увеличение уровня высокоаффинных МР как в поле СА1 ( $F_{2,41}=27,1$ ,  $p < 0,001$ , рис. 6, Б), так и в зубчатой извилине ( $F_{2,35}=6,9$ ,  $p < 0,001$ , рис. 6, А).

Таблица 1. Уровень кортикостероидных рецепторов в нейронах гиппокампа

Структура	Контроль		Пнатальный стресс		
	10 дней	30 дней	отн. контроля	10 дней	30 дней
Поле СА1 гиппокампа	↑ ГР	↑ МР	не отл.	↑ МР	↓ МР
Поле СА3 гиппокампа	не отл.	↑ ГР	не отл.	не отл.	не отл.
Поле СА4 гиппокампа	не отл.	не отл.	не отл.	не отл.	не отл.
Зубчатая извилина	не отл.	не отл.	↓ ГР	↑ МР	не отл.

Механизм и причины усиления экспрессии кортикостероидных рецепторов в гиппокампе и других структурах головного мозга в ходе развития ПТСП на сегодняшний день неизвестны, поэтому объяснить различие в изменении уровня рецепторов у контрольных и ПС крыс пока сложно. Однако увеличение уровня именно высокоаффинных МР должно приводить к более сильному действию глюкокортикоидов на нейроны гиппокампа и, как следствие, к более сильному торможению ГГАС по механизму отрицательной обратной связи. Результаты теста на быструю ООС во время рестресса и 30 дней спустя свидетельствуют как раз о более высокой чувствительности экстрагипоталамических структур крыс группы ПС-ПТСП к тормозному действию глюкокортикоидов по сравнению с крысами группы Контроль-ПТСП – у первых

быстрая ООС включается даже без экзогенной нагрузки ГГАС гидрокортизоном. Через 30 дней у контрольных животных в поле СА1 гиппокампа повышенным оказывалось уже содержание МР, а не ГР, так же возрастало и количество ГР в поле СА3. У ПС крыс, напротив, через 30 дней уровень МР снижался ниже исходного уровня, хотя в отличие от контроля включение ООС в ГГАС в отсутствие экзогенной гормональной нагрузки у них происходит даже спустя 30 суток после рестресса.

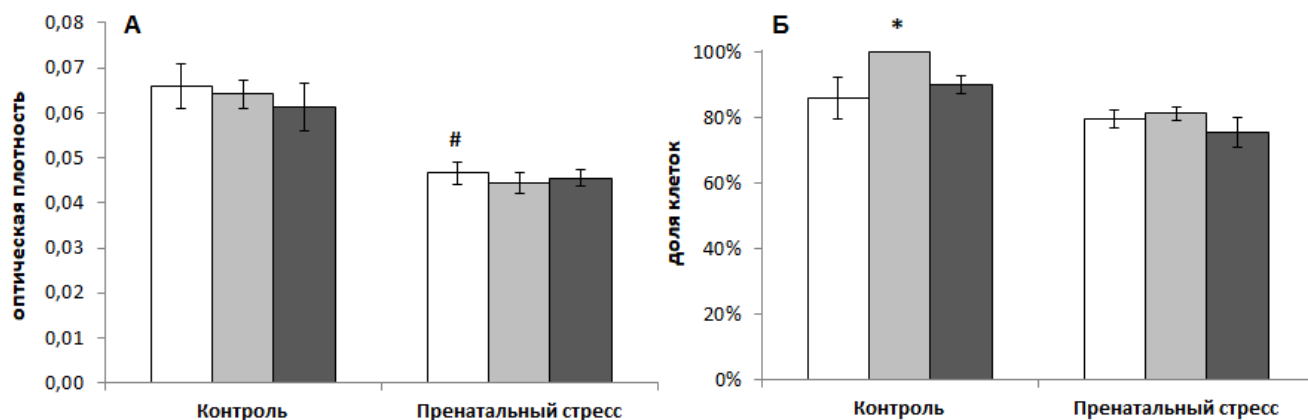


Рисунок 6. Иммуногистохимическая оценка содержания глюкокортикоидных рецепторов (ГР) в зубчатой извилине (А) и поле СА1 (Б) гиппокампа. Белые столбики – «без ПТСП», светлые столбики – «ПТСП 10 дней», темные столбики – «ПТСП 30 дней». \* - отличие от группы «без ПТСП»,  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ , критерий Тьюки.

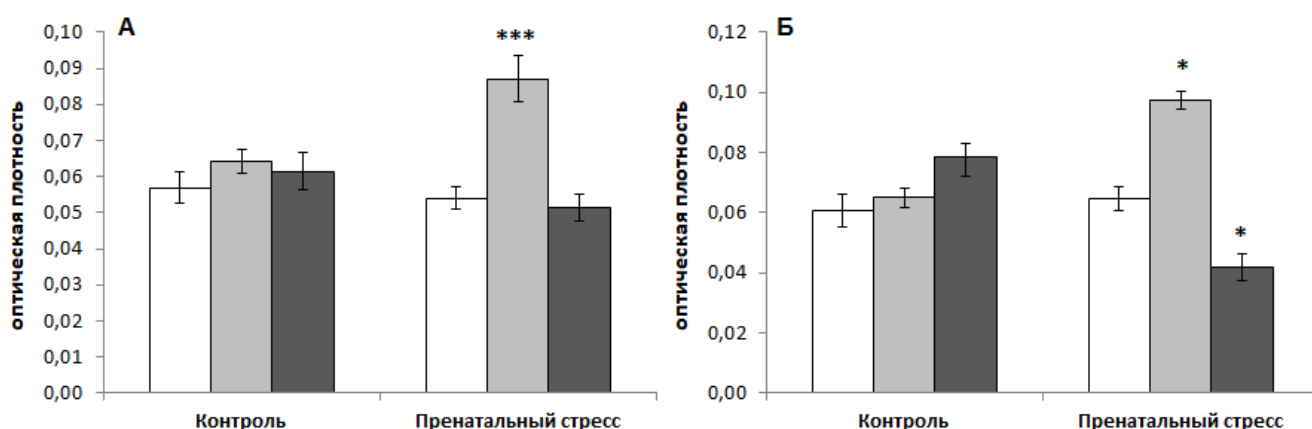


Рисунок 7. Иммуногистохимическая оценка содержания минералокортикоидных рецепторов (МР) в зубчатой извилине (А) и поле СА1 (Б) гиппокампа. Белые столбики – «без ПТСП», светлые столбики – «ПТСП 10 дней», темные столбики – «ПТСП 30 дней». \* - отличие от группы «без ПТСП»,  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ , критерий Тьюки.

### Уровень окислительных модификаций белков и активность супероксиддисмутазы в структурах головного мозга и плазме крови.

Важным молекулярным механизмом патологического действия стрессорных факторов на клетки головного мозга является нарушение окислительно-восстановительного баланса, приводящее к окислительным модификациям липидов, белков и ДНК. При этом в ходе эволюции продукты окислительно-восстановительных реакций энергетического метаболизма стали играть важную роль в процессах внутриклеточной сигнализации нейронов, что могло привести к снижению активности антиоксидантных ферментов мозга (Строев и Самойлов, 2006). Интенсивный метаболизм и высокая концентрация полиненасыщенных жирных кислот в мембранах нейронов, с одной стороны, и низкая активность антиоксидантной системы, с другой, делают мозг наиболее чувствительным к действию окислительного стресса органом (Fagoqui и др., 2004). Хотя по данным (Zhu и др., 2004) наибольшее количество кортикостероидных

рецепторов делает гиппокамп наиболее чувствительным к нарушению окислительно-восстановительного баланса, в данной работе усиление окислительных модификаций белков (ОМБ) после пренатального стресса обнаружено в гипоталамусе ( $F_{3,63}=9,2$ ,  $p<0,001$ , рис. 8, А,Б) – центральном звене системы стрессорного ответа, наиболее сильно вовлеченной в патогенез постстрессорных тревожно-депрессивных расстройств. При этом наряду со спонтанными ОМБ (СОМБ) усиливались и индуцированные (ФОМБ,  $F_{3,64}=5,3$ ,  $p<0,001$ , рис. 8, В,Г), то есть параллельно с ростом окислительно-восстановительного стресса усиливалась и активность защитных механизмов. В гиппокампе же усиливались только ФОМБ ( $F_{3,62}=3,1$ ,  $p<0,05$ , рис. 9, В,Г), что могло защищать его клетки от усиления окислительно-восстановительного стресса (таб. 2). Отличались ПС крысы и активностью ключевого фермента антиоксидантной системы – супероксиддисмутазы – в плазме крови была повышена активность СОД3 ( $F_{3,64}=9,8$ ,  $p<0,001$ , рис. 12, В). В исследовании нашей лаборатории (Вьюшина и др., 2012) она оказалась, напротив, сниженной (на 65%) у ПС крыс по сравнению с контрольными, что может быть связано с использованием разных линий крыс (Спрейг-Доули, а не Вистар) и сроков пренатального стресса (17-20 дни беременности в работе А.В. Вьюшиной, 15-19 дни в данной работе). Данные противоречия требуют дальнейших исследований, однако выявленные отличия в активности СОД3 у пренатально стрессированных самцов крыс могут в будущем послужить основой для разработки новых диагностических методик оценки последствий пренатальных стрессорных воздействий в клинической практике.

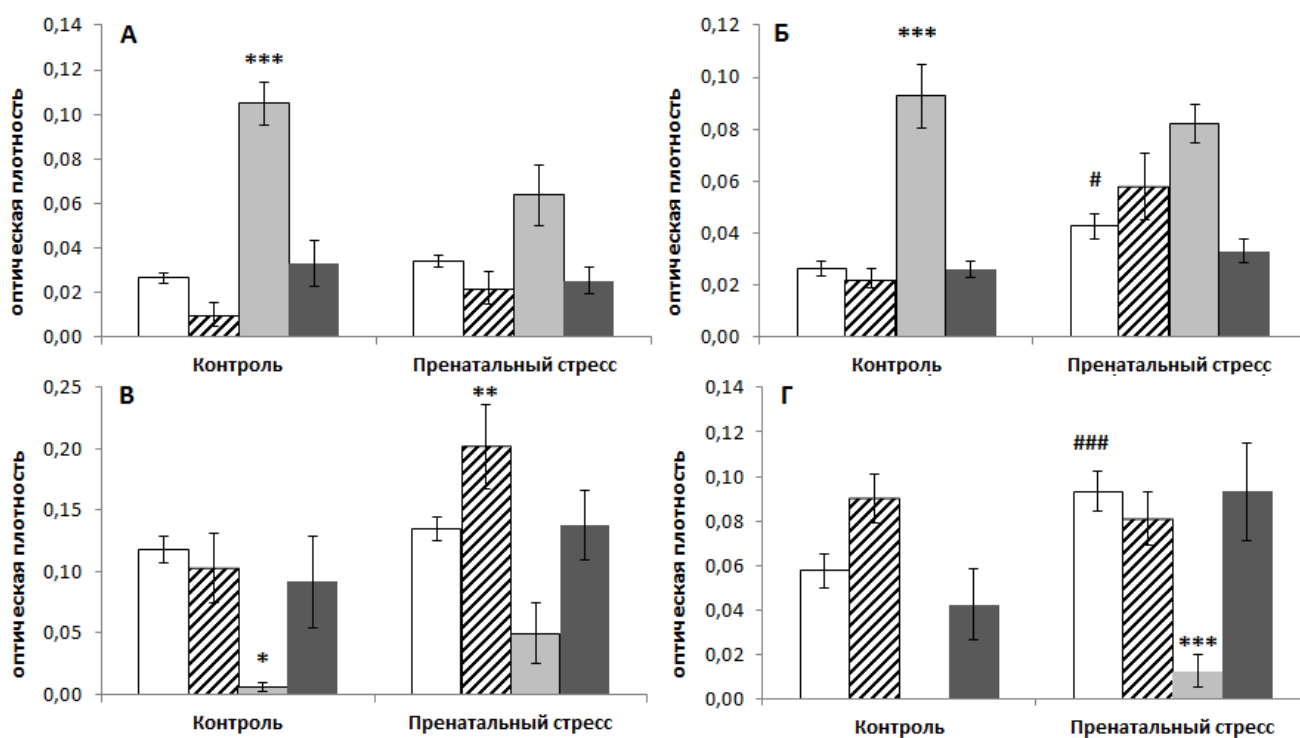


Рисунок 8. Спонтанные (А,Б) и индуцированные реактивом Фентона (В,Г) окислительные модификации белков (ОМБ) в гипоталамусе. А,В – длина волны 270 нм, Б,Г – длина волны 363 нм. Белые столбики – «без ПТСР», заштрихованные столбики – «ПТСР 1 день», светлые столбики – «ПТСР 10 дней», темные столбики – «ПТСР 30 дней» # - различия между контрольными и ПС крысами,  $p<0,05$ , ### -  $p<0,001$ ; \* - отличия от группы «без ПТСР»,  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,001$ , критерий Тьюки.

Также контрольные и ПС самцы крыс отличаются по динамике уровня СОМБ и ФОМБ, а кроме того, по активности СОД в плазме крови и структурах головного мозга, в ходе развития постстрессового состояния в модели ПТСР. Из таблицы 2 видно, что у контрольных крыс биохимические проявления постстрессовой патологии в модели ПТСР начинают появляться

лишь через 10 суток после рестресса. В их **гипоталамусе** увеличение уровня окислительного стресса (**СОМБ**,  $F_{3,64}=24$ ,  $p<0,001$ , рис. 8, А,Б) сопровождается снижением уровня устойчивости к окислительному стрессу (**ФОМБ**,  $F_{3,63}=4,5$ ,  $p<0,01$ , рис. 8, В,Г). В **гиппокампе** же у контрольных крыс вместе с усилением уровня **СОМБ** ( $F_{3,61}=10,9$ ,  $p<0,001$ , рис. 11, А,Б) растет активность супероксиддисмутазы (**СОД1**,  $F_{3,63}=21,9$ ,  $p<0,001$ , рис. 12, А), причем ее увеличение заметно уже на следующие сутки – до существенного усиления уровня окислительного стресса. В то же время у ПС крыс уже на следующие сутки усиливается уровень окислительного стресса в **гиппокампе**, что может быть связано с усилением активности СОД1 только в гиппокампе контрольных, но не ПС крыс. При этом в **гипоталамусе** ( $F_{3,63}=4,5$ ,  $p<0,01$ , рис. 8, В,Г) и **неокортексе** ( $F_{3,63}=5,0$ ,  $p<0,01$ , рис. 10, В,Г) через 1 день возрастает уровень **ФОМБ**, что может обеспечивать более высокую устойчивость этих структур к окислительным последствиям ПТСР на фоне пренатального стресса. Через 10 суток в **гипоталамусе** и **неокортексе** ПС крыс по-прежнему не отмечается повышение уровня **СОМБ**, в отличие от **гиппокампа**. Зато уровень **ФОМБ** через 10 суток напротив снижается относительно исходного уровня, что может говорить об истощении защитных механизмов клеток. Кроме гиппокампа увеличение **СОМБ** обнаруживается в **плазме крови** ( $F_{3,64}=30,7$ ,  $p<0,001$ , рис. 11, А,Б), где помимо этого также снижается активность ключевого антиоксидантного фермента **СОД3** (рис. 12, В). Хотя нарушения функционирования ГГАС после моделирования ПТСР сохраняются у ПС и в меньшей степени у контрольных крыс и через 30 суток, биохимические проявления постстрессовой патологии не обнаруживаются даже через 20 суток после рестресса.

Таблица 2. Изменение уровня ОМБ и активности СОД при моделировании ПТСР.

Структура	Контроль			Пренатальный стресс			
	1 день	10 дней	20 дней	отн. контроля	1 день	10 дней	20 дней
Гипоталамус		↑ СОМБ ↓ ФОМБ		↑ СОМБ ↑ ФОМБ	↑ ФОМБ	↓ ФОМБ	
Гиппокамп	↑ СОД1	↑ СОМБ ↑ СОД1		↑ ФОМБ	↑ СОМБ	↓ ФОМБ	↓ ФОМБ
Неокортекс		↑ СОМБ			↑ ФОМБ	↓ ФОМБ	
Плазма		↑ СОМБ ↑ ФОМБ ↓ SH		↑ СОД3	↑ ФОМБ ↓ СОД3	↑ СОМБ ↓ СОД3	

В ряде проведенных исследований (Tezcan и др., 2003; Ozdemir и др., 2015) оценивался уровень окислительного стресса и активности антиоксидантной системы у пациентов с ПТСР, но отличий от контрольной группы не обнаружено. Однако в одном экспериментальном исследовании с использованием той же модели «стресс-рестресс», что и в данной работе (Garabadi и др., 2015), показано увеличение уровня окислительного и нитрозативного (связанного с действием NO) стресса, а также снижение активности СОД и каталазы во всех исследованных областях мозга – гипоталамусе, гиппокампе, амигдале и префронтальной коре. В той же работе фармакологически показано участие митохондриальных цитохромов в патогенезе ПТСР. Введение рисперидона и пароксетина снижало время неподвижности в тесте Порсолта (выраженность депрессивноподобного поведения) и увеличивало время в открытых рукавах ПКЛ (уровень тревожности), а рисперидон еще и нормализовал сниженный уровень кортикостерона в плазме крови, что в сумме подтверждало их эффективность при терапии ПТСР. При этом рисперидон снижал вызванную моделированием ПТСР активность ферментативных комплексов митохондрий во всех исследованных структурах, а также уровень цитохрома-с, каспазы-3 и каспазы-9, оказывая антиапоптотическое действие. Пароксетин также снижал уровень каспазы-3, но не цитохрома-с и каспазы-9 во всех исследованных областях, однако повышал соотношение Bcl-2/Bax в гиппокампе, что также указывает на его антиапоптотическое действие.

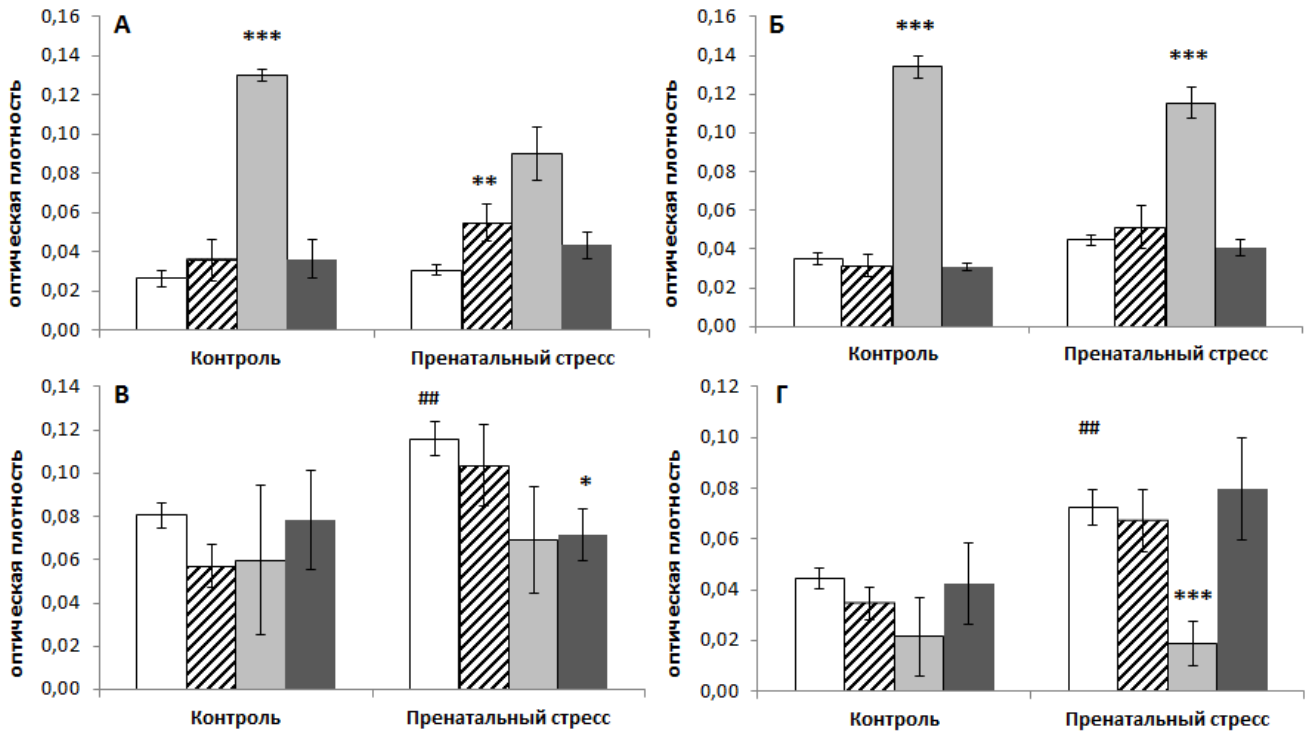


Рисунок 9. Спонтанные (А,Б) и индуцированные реактивом Фентона (В,Г) окислительные модификации белков (ОМБ) в гиппокампе. Подписи, как на рис. 8

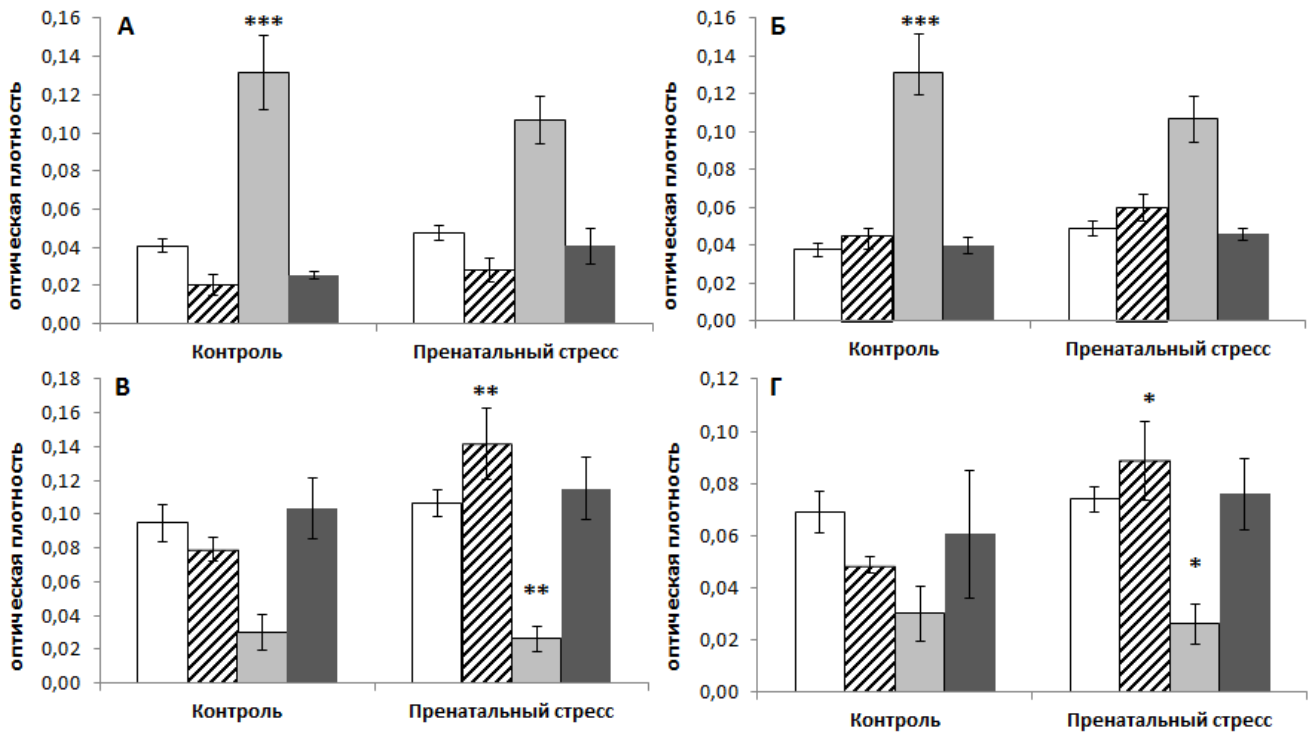


Рисунок 10. Спонтанные (А,Б) и индуцированные реактивом Фентона (В,Г) окислительные модификации белков (ОМБ) в неокортексе. Подписи, как на рис. 8



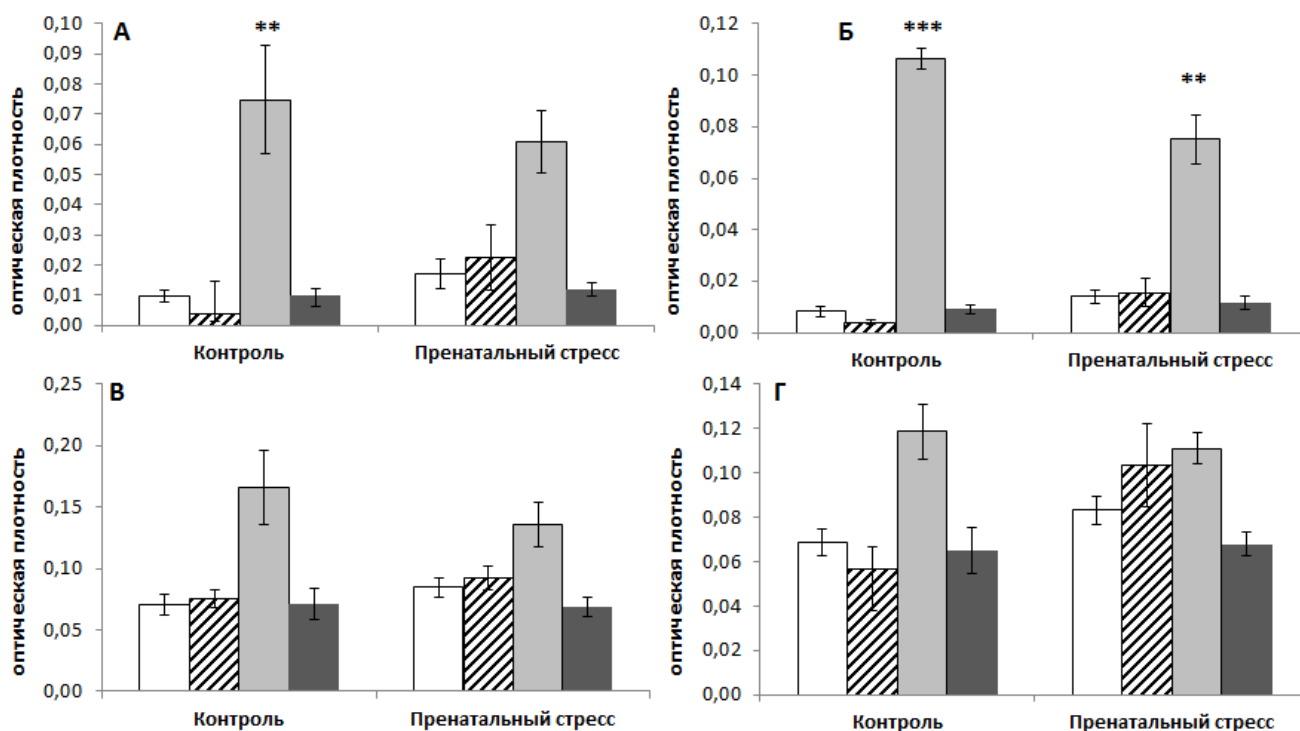


Рисунок 11. Спонтанные (А,Б) и индуцированные реактивом Фентона (В,Г) окислительные модификации белков (ОМБ) в плазме крови. Подписи, как на рис. 8

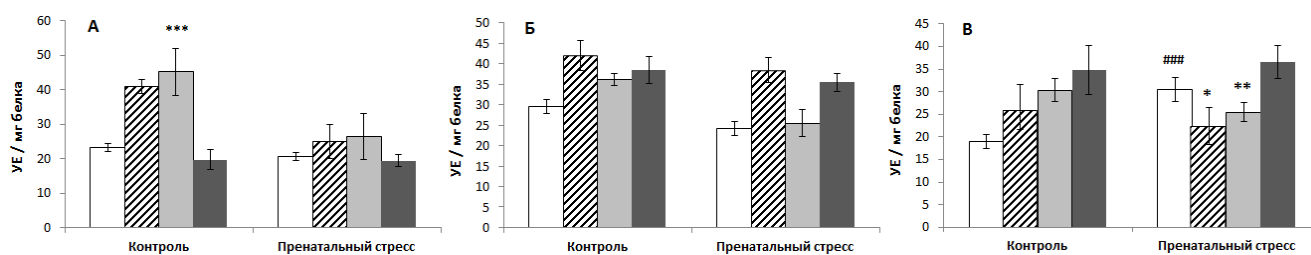


Рисунок 12. Активность СОД1 в гиппокампе (А) и неокортексе (Б), и активность СОД3 плазме крови (В). Подписи, как на рис. 8

## Выводы

1. Моделирование посттравматического стрессового расстройства у пренатально стрессированных самцов приводит к формированию тревожно-депрессивного, а не тревожного, как у контрольных животных, состояния.
2. Пренатальный стресс вызывает значительное повышение базального уровня кортикостерона в плазме крови взрослых самцов крыс. Моделирование посттравматического стрессового расстройства у пренатально стрессированных самцов приводит к длительному снижению глюкокортикоидов в крови, а также к более сильному торможению гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы по механизму быстрой отрицательной обратной связи, в том числе и в отставленные сроки.
3. Активация гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы пренатально стрессированных крыс связана с увеличением содержания кортиколиберина и вазопрессина в паравентрикулярном ядре гипоталамуса. Динамика содержания этих нейрогормонов в ходе формирования ПТСР-подобного состояния у контрольных и пренатально стрессированных животных различается.
4. Снижение уровня глюкокортикоидных рецепторов в зубчатой извилине гиппокампа после пренатального стресса сопровождается нарушением механизма отрицательной обратной связи в гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системе. При моделировании

посттравматического стрессового расстройства на фоне пренатального стресса наблюдается увеличение содержания минералокортикоидных, а не глюкокортикоидных рецепторов, в поле СА1 и зубчатой извилине гиппокампа, что может являться причиной снижения базальной активности и более выраженной отрицательной обратной связи гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы пренатально стрессированных крыс.

5. Пренатальный стресс приводит к увеличению уровня окислительной модификации белков в гипоталамусе. Формирование ПТСР-подобного состояния на фоне пренатального стресса характеризуется более быстрым запуском процессов окислительной модификации белков.

### **Список работ, опубликованных автором по теме диссертации**

#### **Статьи в рецензируемых научных журналах из списка ВАК:**

1. Ордян Н.Э., Смоленский И.В., Пивина С.Г., Акулова В.К. Особенности формирования тревожно-депрессивного состояния в экспериментальной модели посттравматического стрессового расстройства у пренатально стрессированных самцов крыс // Журнал Высшей Нервной Деятельности. -2013. -Т. 63, № 2.- С. 280–289.
2. Пивина, С.Г., Ракицкая В.В., Смоленский И.В., Акулова В.К., Ордян Н.Э. Модификация экспрессии нейрого르몬ов в гипоталамусе пренатально стрессированных самцов крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. -2014.- Т. 50, № 4. -С. 305–311.
3. Смоленский И.В., Притворова А.В. Ордян Н.Э. Влияние пренатального стресса на окислительные модификации белков и активность супероксиддисмутазы в мозге и крови самцов крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.- 2018. -Т. 104, №11. -С. 1270-1276.

#### **Тезисы докладов**

1. Смоленский И.В. Зависимость формирования тревожно-депрессивного расстройства в модели «стресс-рестресс» от стратегии приспособительного поведения // Сборник тезисов конференции «Механизмы адаптации физиологических систем организма к факторам среды». 2010. С. 98-99.
2. Смоленский И.В. Формирование постстрессорных расстройств у пренатально стрессированных самцов крыс // Сборник тезисов XVII Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные вопросы патофизиологии». 2010. С. 113-114.
3. Смоленский И.В. Нейрогомональные аспекты формирования постстрессорного расстройства у пренатально стрессированных самцов крыс // Медицинский академический журнал. 2012. Т. 12. № 3. С. 46–48.
4. Смоленский И.В., Притворова А.В. Влияние пренатального стресса на окислительную модификацию белков в структурах головного мозга крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // Сборник тезисов Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и висцеральных систем», посвященной 90-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. 2015. С. 181-182.
5. Смоленский И.В., Притворова А.В. Влияние пренатального стресса на окислительную модификацию белков в структурах головного мозга крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // Сборник тезисов XV Всероссийского совещания с международным участием и VIII школе по эволюционной физиологии, посвященных памяти академика Л.А. Орбели и 60-летию ИЭФБ РАН. 2016. С. 223
6. Смоленский И.В., Притворова А.В. Влияние пренатального стресса на окислительную модификацию белков в структурах головного мозга крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // Материалы XXIII Съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова. 2017. С. 629-631.