

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

НЕЙРОНАУКИ

**РЕСВЕРАТРОЛ НИВЕЛИРУЕТ ПОСЛЕДСТВИЯ  
ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА**

© Л. Е. Беляева, А. Н. Павлюкевич, С. С. Лазуко,  
И. В. Лигецкая, Н. И. Орехова

Витебский государственный медицинский университет,  
Витебск, Республика Беларусь  
E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by

Установлено, что введение ресвератрола (Sigma, США, 10 мг/кг, внутривенно) крысам в течение всей беременности на фоне моделирования хронического стресса посредством лишения их пищи в течение суток, иммобилизации в воде комнатной температуры и посредством контакта с экскрементами кошек существенным образом ограничивает нарушение поведения их 3-месячного потомства в тесте «открытое поле», а также препятствует снижению физической выносливости и способствует снижению повышенной чувствительности к болевым стимулам пренатально стрессированных крыс. Введение ресвератрола беременным крысам на фоне хронического стресса также предупреждает повышение артериального давления у потомства и способствует увеличению содержания нитратов/нитритов в сыворотке крови такого потомства.

*Ключевые слова:* ресвератрол, пренатальный стресс, поведение, артериальное давление, нитраты/нитриты.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 4. С. 425—439. 2018

*L. Eu. Belyaeva, A. N. Pauliukevich, S. S. Lazuka, I. V. Lihetskaya, N. I. Orekhova. RESVERATROL ALLEVIATES PRENATAL STRESS CONSEQUENCES (EXPERIMENTAL INVESTIGATION).* Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus, e-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by

It was established that resveratrol introduction to rats (Sigma, USA, 10 mg/kg via oral gavage, daily) exposed to chronic stress during pregnancy by food deprivations during one day, immobilization in the water of room temperature and contact with cats' excrements significantly ameliorates their 3-month offspring's behavioral disorders in the «open field» test, prevents decrease of physical endurance and increase of pain sensitivity of prenatally stressed rats. Resveratrol introduction to pregnant rats, which were undergoing chronic stress, also prevents blood pressure elevation in their offspring and increases nitrates/nitrites concentration in offspring's blood serum.

*Kew words:* resveratrol, prenatal stress, behaviour, blood pressure, nitrates/nitrites.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 4. P. 425—439. 2018

Воздействие неблагоприятных факторов на материнский организм во время беременности программирует возникновение целого спектра расстройств у потомства. В ходе многочисленных эпидемиологических исследований бы-

ло показано, что у организмов, перенесших пренатальный стресс, возрастает риск развития различных заболеваний практически всех органов и систем, включая нервную, сердечно-сосудистую, систему внешнего дыхания, пищеварительную и эндокринную системы [12]. Так, в ходе масштабного эпидемиологического исследования, проведенного в Германии, целью которого была оценка распространенности заболеваний сердечно-сосудистой системы в популяции лиц, включившей более пятидесяти тысяч человек в возрасте до 40 лет, матери которых за год до наступления беременности или во время ее перенесли психоэмоциональный стресс вследствие гибели кровных родственников, супругов или лишения родительских прав, было установлено, что у таких индивидуумов чаще регистрировались различные заболевания сердечно-сосудистой системы, причем частота развития этих форм патологии у потомков особенно возрастала в тех случаях, когда смерть близкого родственника беременной женщины была внезапной [19]. Именно непредсказуемость развития дистресса у некоторых беременных инициирует поиск способов минимизации последствий пренатального стресса в тех случаях, когда предотвратить его невозможно. Нам представляется, что для этого целесообразно использовать нутрицевтики — вещества, содержащиеся в пищевых продуктах и обладающие доказанной биологической активностью. Одним из таких веществ является полифенол ресвератрол, флавоноид, содержащийся в кожуре, косточках, деревянистых ножках и веточках красного винограда, а также в чернике, голубике, черной смородине, гранатах, арахисе и других продуктах растительного происхождения [23]. Спектр благоприятных эффектов ресвератрола весьма обширен и включает антиоксидантный, противовоспалительный, противоопухолевый, кардиопротекторный и нейропротекторный эффекты [9]. Однако нами ресвератрол использовался как вещество, потенциально способное влиять на эпигенетические механизмы [27], так как именно они определяют появление стойких «эпигенетических меток», программирующих развитие различных форм патологии у индивидуумов, перенесших пренатальный стресс [10, 16]. Цель исследования — изучить влияние ресвератрола, вводимого беременным крысам на фоне моделирования у них стресса, на поведение, моторно-координационные функции, болевую чувствительность и физическую выносливость их потомства, а также определить артериальное давление и концентрацию нитратов/нитритов в сыворотке крови потомства.

## МЕТОДИКА

Эксперименты на животных проводились в соответствии с требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals». Для получения потомства в клетки в соотношении 1:1 были высажены беспородные 4-месячные самки и самцы крыс *Rattus Muridae*, находящиеся в стандартных условиях вивария и получающие стандартный рацион питания. После наступления беременности, о чем косвенно свидетельствовало обнаружение сперматозоидов во влагалищном мазке самки, самцы были отсажены, а из самок методом случайного выбора сформировали группы «контроль» и «стресс». Крыс группы «стресс» на 2, 9 и 16-й дни беременности лишали пищи в течение суток, сохраняя при этом свободный доступ к воде; на 4-й и 11-й дни беременности крыс фиксировали в вертикальном положении в пластиковом пенале, заполненном водой ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ), до уровня шеи в течение 20 мин; на 6-й и 13-й дни беременности имитировали присутствие хищника, обеспечивая контакт с экскрементами кошек в течение одних

суток. Беременность крыс группы «контроль» протекала в обычных условиях. Одной половине беременных крыс каждой группы со 2-го дня и в течение всей беременности ежедневно вводили ресвератрол (Sigma, США, 10 мг/кг) с помощью желудочного зонда в одно и то же время утром натошак для повышения биодоступности предварительно растворив его в 0.5%-ном растворе карбоксиметилцеллюлозы в соответствии с рекомендациями S. Das [7]. Другой половине крыс каждой группы внутрижелудочно ежедневно вводили эквивалентный объем 0.5%-ного раствора карбоксиметилцеллюлозы. Поскольку в дальнейших исследованиях не было выявлено отличий в изучаемых параметрах потомства контрольных крыс, матери которых получали карбоксиметилцеллюлозу, и потомства контрольных интактных крыс, не получавших ее, далее под термином потомство группы «контроль» будут подразумеваться животные, родившиеся у контрольных крыс, которым ежедневно внутрижелудочно вводили карбоксиметилцеллюлозу. После рождения потомства отмечали уровень каннибализма самками родившегося потомства в течение 10 дней, а затем исследовали поведение потомства ( $n = 174$ , в том числе самки-контроль — 24 крысы, самки-контроль + ресвератрол — 24 крысы, самки-стресс — 22 крысы, самки-стресс + ресвератрол — 24 крысы, самцы-контроль — 21 крыса, самцы-контроль + ресвератрол — 21 крыса, самцы-стресс — 17 крыс, самцы-стресс + ресвератрол — 21 крыса) в 1-месячном и 3-месячном возрасте в тесте «открытое поле» в течение 3 мин в утренние часы в затененной комнате с помощью видеосистемы SMART и программного обеспечения SMART 3.0. Двигательную активность крыс оценивали по дистанции их перемещения в центральной зоне и на периферии «поля» (выраженной в процентах от дистанции перемещения по «полю» в течение 3 мин), а также по процентному соотношению продолжительности нахождения крыс в разных зонах и по длительности замирания в центральной, периферической зонах и общему процентному соотношению времени замирания. Об исследовательской активности животных судили по количеству вертикальных стоек, а об эмоциональности животных — по количеству болусов. В эти же возрастные периоды изучали болевую чувствительность потомства с помощью прибора Panlab Harvard LE7106, который фиксировал время ответной реакции животного при воздействии на его хвост сфокусированного источника тепла от галогенной лампы (50 Вт — 12В) различной интенсивности, вызывающего дискомфорт. Характер моторно-координационной функции и выносливости потомства изучали, помещая животных на вращающийся со скоростью 30—35 об/мин валик ротарода Panlab LE8500 и оценивая автоматически зарегистрированное время, в течение которого крысы удерживались на валике. У предварительно адаптированного в течение 2 недель 3-месячного потомства неинвазивным методом с использованием датчика-манжетки (NIBP, Panlab), располагавшегося в проекции хвостовой артерии, измеряли частоту сердечных сокращений, систолическое и диастолическое, а также среднее артериальное давление (ЧСС, САД, ДАД и СрАД соответственно). В сыворотке крови 3-месячного потомства спектрофотометрически определяли содержание стабильных продуктов деградации оксида азота (NO) нитратов/нитритов ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ) с помощью реакции Грисса [17].

Обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 10.0 с использованием непараметрических методов статистики. Цифровые данные, представленные в виде Me (15 %; 85 %), сравнивали, применяя U-критерий Манна—Уитни для независимых групп. Различия цифровых показателей считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Самки, подвергавшиеся хроническому стрессу во время беременности, уничтожали 34.1 % новорожденного потомства в первые 10 дней после его рождения, в то время как процент каннибализма самками контрольной группы своего потомства составлял лишь 5.1 %. Введение ресвератрола беременным крысам групп «стресс» и «контроль» полностью устраняло уничтожение этими самками своего потомства.

*Влияние ресвератрола на поведение потомства крыс в тесте «открытое поле».* Введение ресвератрола беременным крысам контрольной группы не приводило к статистически значимому изменению большинства изучаемых у их 1-месячного потомства показателей. Однако длительность замирания потомства самок в периферической зоне «поля» и общая длительность замирания под влиянием ресвератрола возрастали до 60.0 (45.1; 88.2) и 65.8 (47.5; 88.8) % соответственно против 42.0 (18.3; 57.6) и 43.1 (18.3; 57.6) % соответственно у потомства аналогичного возраста и пола контрольных интактных крыс ( $p = 0.0003$  и  $p = 0.0005$ ). У 1-месячного потомства самцов, матери которых получали ресвератрол, общая длительность замирания также увеличивалась до 46.3 (29.1; 66.0) против 33.0 (20.2; 58.2) % у потомства соответствующего пола контрольных интактных крыс ( $p = 0.031$ ). В то же время у 3-месячного потомства самок, родившихся у крыс группы «контроль + ресвератрол», продолжительность пребывания в периферической зоне «поля» возросла (табл. 1;  $p = 0.001$ ), а в центральной зоне — снизилась в 4.3 раза по сравнению с таковой у 3-месячного потомства самок контрольных крыс, не получавших ресвератрол ( $p = 0.0011$ ). У 3-месячного потомства самцов, матери которых во время нормально протекавшей беременности получали ресвератрол, изменения оказались еще более выраженными: продолжительность пребывания крыс в центральной зоне «поля» и дистанция перемещения в ней в сравнении с показателями у контрольного потомства самцов соответствующего возраста, матери которых не получали ресвератрол, снизились в 2.4 и 2.0 раза соответственно (табл. 1). Длительность замирания в периферической зоне «поля» и общая длительность замирания 3-месячных самцов группы «контроль+ресвератрол», наоборот, возросли в 1.6 и 1.7 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями, обнаруженными у самцов 3-месячного возраста, родившихся у интактных крыс группы «контроль».

У 1-месячных пренатально стрессированных самок продолжительность пребывания в периферической зоне «поля» увеличилась до 99.1 (98.0; 100.0) % ( $p = 0.004$ ); также увеличилась дистанция перемещения в этой зоне ( $p = 0.012$ ). Продолжительность пребывания пренатально стрессированных 1-месячных самок в центральной зоне «поля» и дистанция перемещения в ней уменьшались практически в 2.3 и в 4.0 раза (табл. 1). Количество вертикальных стоек у этих животных также уменьшалось до 11.5 (8.0; 16.0) против 14.0 (10.0; 17.0) стоек, зарегистрированных в тесте у 1-месячных крыс группы «потомство-самки-контроль» ( $p = 0.043$ ). Практически все эти изменения у пренатально стрессированных самок сохранялись вплоть до 3-месячного возраста. Эти данные свидетельствуют об увеличении пассивности и снижении активности самок, перенесших пренатальный стресс.

У 1-месячных пренатально стрессированных самцов продолжительность замирания в периферической зоне «поля» и общая длительность замирания возрастали на 85.6 и 80.3 % по сравнению с таковой у крыс аналогичного возраста и пола, родившихся у контрольных животных (табл. 1). В 3-месячном

Таблица 1

Влияние ресвератрола, вводимого беременным крысам на фоне действия стрессоров, на характер изменения двигательной активности их потомства в тесте «открытое поле»

Потомство крыс		Показатели			
		периферическая зона «поля»		центральная зона «поля»	
		продолжительность пребывания, %	дистанция, %	продолжительность пребывания, %	дистанция, %
1 месяц					
Самки	Контроль	97.3 (89.0; 99.7)	94.4 (82.2; 99.1)	2.1 (0.3; 11.1)	5.6 (0.7; 17.9)
	Контроль + ресвератрол	97.1 (92.5; 99.6)	94.4 (90.6; 98.8)	2.9 (0.4; 7.5)	5.7 (1.2; 9.4)
	Стресс	99.1* (98.0; 100.0)	98.6* (94.0; 100.0)	0.9* (0.0; 2.0)	1.4* (0.0; 6.0)
	Стресс + ресвератрол	95.1# (89.6; 99.6)	94.3# (86.8; 99.1)	4.9# (0.4; 10.4)	5.7# (0.9; 13.2)
Самцы	Контроль	97.7 (94.9; 99.0)	94.2 (88.0; 98.2)	2.3 (1.0; 5.2)	5.8 (1.8; 12.0)
	Контроль + ресвератрол	97.5 (88.4; 99.6)	95.9 (80.9; 98.2)	2.5 (0.4; 11.6)	4.1 (1.8; 19.1)
	Стресс	98.7 (93.6; 100.0)	98.1 (86.6; 100.0)	0.8 (0.0; 6.4)	1.9 (0.0; 13.4)
	Стресс + ресвератрол	97.5# (95.5; 98.8)	95.3# (90.5; 97.8)	2.5# (1.2; 4.6)	4.7# (2.3; 9.5)
3 месяца					
Самки	Контроль	95.5 (89.6; 97.3)	92.8 (86.6; 96.3)	4.5 (2.8; 9.5)	7.2 (3.7; 13.4)
	Контроль + ресвератрол	99.0* (93.1; 99.8)	94.1 (88.2; 98.7)	1.0* (0.2; 6.9)	5.9 (1.3; 11.1)
	Стресс	99.9* (97.5; 100.0)	97.8* (93.0; 100.0)	0.1* (0.0; 2.5)	1.4* (0.0; 7.0)
	Стресс + ресвератрол	98.5*.# (93.4; 99.8)	95.0# (86.7; 98.8)	1.4*.# (0.2; 6.7)	4.9 # (0.9; 12.8)
Самцы	Контроль	94.7 (89.9; 97.9)	90.5 (69.2; 95.1)	4.8 (1.5; 10.1)	9.5 (4.8; 30.8)
	Контроль + ресвератрол	97.9 (86.3; 99.3)	95.1* (83.5; 97.5)	2.0* (0.7; 13.7)	4.7* (2.0; 10.4)
	Стресс	98.7* (96.0; 100.0)	95.0* (81.9; 100.0)	1.3* (0.0; 4.0)	5.0* (0.0; 16.2)
	Стресс + ресвератрол	94.2# (15.7; 99.9)	89.2 (42.0; 99.0)	5.8# (0.1; 84.3)	10.8 (1.0; 58.0)

Примечание (здесь и в табл. 2). \*  $p \leq 0.05$  — сравнение с группой «потомство—контроль» соответствующего возраста и пола; #  $p \leq 0.05$  — сравнение с группой «потомство—стресс» соответствующего возраста и пола.

возрасте у пренатально стрессированных самцов возрастали: продолжительность пребывания в периферической зоне «поля» ( $p = 0.00008$ ), дистанция перемещения в этой зоне «поля» ( $p = 0.026$ ; табл. 1) и длительность замирания в периферической зоне «поля», которая составляла 72.9 (38.2; 86.2) против 36.6 (6.1; 74.1) % у 3-месячных самцов, родившихся у крыс контрольной группы ( $p = 0.007$ ).

Введение ресвератрола беременным крысам на фоне стресса способствовало значимому ( $p = 0.0002$ ) уменьшению продолжительности пребывания их 1-месячного потомства самок в периферической зоне «поля» по сравнению с таковой, обнаруженной у потомства группы «самки-стресс 1 месяц», а также уменьшению дистанции перемещения в этой зоне поля ( $p = 0.002$ ; табл. 1). Под влиянием ресвератрола у 1-месячных пренатально стрессированных самок продолжительность пребывания в центральной зоне «поля» и дистанция перемещения в этой зоне увеличивались в 5.4 и 4.0 раза соответственно по сравнению с показателями у пренатально стрессированных 1-месячных самок, матери которых не получали ресвератрол. Количество вертикальных стоек у 1-месячных пренатально стрессированных самок, матери которых получали ресвератрол во время беременности, возросло до 13.0 (11.0; 18.0) стоек против 11.5 (8.0; 16.0) стоек у 1-месячного потомства самок крыс, подвергавшихся стрессу и не получавших ресвератрол ( $p = 0.028$ ). Такие позитивные сдвиги сохранялись у крыс и в 3-месячном возрасте: продолжительность пребывания и дистанция перемещения в периферической зоне «поля» уменьшались по сравнению с показателями, обнаруженными в группе самок «потомство-стресс» аналогичного возраста, матери которых не получали ресвератрол (табл. 1). Продолжительность пребывания и дистанция перемещения 3-месячных пренатально стрессированных самок, матери которых получали ресвератрол, в центральной зоне «поля», наоборот, возрастали в 1.5 и 3.4 раза соответственно (сравнение с показателями группы «потомство-стресс-самки 3 месяца»). При этом общая длительность замирания этих крыс возрастала до 68.6 (43.0; 93.2) против 56.2 (33.2; 87.9) % у пренатально стрессированных 3-месячных самок, матери которых не получали ресвератрол во время беременности, а количество вертикальных стоек не восстанавливалось.

У пренатально стрессированных 1-месячных самцов, матерям которых вводили ресвератрол во время беременности, выявляли сходную динамику изменения изучаемых показателей. В 3-месячном возрасте у самцов, матери которых подвергались хроническому стрессу на фоне введения ресвератрола, статистически значимо ( $p = 0.005$ ) уменьшалась продолжительность пребывания в периферической зоне «поля» по сравнению с таковой у пренатально стрессированных самцов аналогичного возраста, матери которых не получали ресвератрол во время беременности (табл. 1). Напротив, под влиянием ресвератрола у пренатально стрессированных 3-месячных самцов продолжительность пребывания в центральной зоне «поля» возрастала в 4.5 раза по сравнению с соответствующим показателем у пренатально стрессированных крыс аналогичного пола и возраста, матери которых не получали ресвератрол во время беременности. При этом у 3-месячных самцов, родившихся у крыс группы «стресс + ресвератрол», возрастала длительность замирания в центральной зоне поля до 1.3 (0.0; 55.6) против 0.0 (0.0; 1.3) % у пренатально стрессированных самцов, матерям которых ресвератрол не вводили ( $p = 0.036$ ). Следовательно, введение ресвератрола беременным крысам на фоне хронического стресса существенным образом предупреждало нарушения поведения их 1- и 3-месячного потомства в тесте «открытое поле».

*Влияние ресвератрола на моторно-координационные функции и физическую выносливость.* Введение ресвератрола беременным крысам контрольной группы привело к тому, что у их потомства самок, но не самцов, в 1-месячном возрасте время пребывания на вращающемся валике ротарода составляло 26.0 (10.0; 50.0) с и в 1.9 раза превышало таковое — 13.5 (4.0; 27.0) с, зарегистрированное у самок аналогичного возраста, родившихся у контрольных интактных крыс ( $p = 0.005$ ). В 3-месячном возрасте у потомства самок, родившегося у крыс группы «контроль» и «контроль+ресвератрол», такие отличия уже не выявлялись. Воздействие хронического стресса на беременных крыс привело к статистически значимому уменьшению продолжительности пребывания на вращающемся валике ротарода их потомства самок в 1-месячном возрасте до 3.0 (0.0; 18.0) с,  $p = 0.003$ , а также потомства самцов в 3-месячном возрасте до 2.0 (0.0; 10.0) с против 9.0 (3.0; 22.0) с ( $p = 0.003$ ) по сравнению с таковой у потомства контрольных крыс соответствующего пола и возраста. Это указывает на нарушение моторно-координационной функции и снижение физической выносливости у пренатально стрессированных животных. Под влиянием ресвератрола, вводимого беременным крысам во время стресса, у их 1-месячного потомства самок и 3-месячного потомства самцов длительность нахождения на вращающемся валике ротарода возрастала и составляла 10.5 (5.0; 35.0) и 9.0 (1.0; 19.0) с соответственно не отличаясь от таковой, зарегистрированной у потомства соответствующего пола и возраста, родившегося у контрольных интактных крыс 13.5 (4.0; 27.0) и 9.0 (3.0; 22.0) с соответственно.

*Изменение болевой чувствительности крыс под влиянием ресвератрола, вводимого их матерям во время беременности.* Продолжительность неподвижного контакта хвоста как 1-месячного, так и 3-месячного потомства крыс группы «контроль + ресвератрол» не отличалась от таковой, обнаруженной у потомства контрольных интактных крыс (табл. 2). У пренатально стрессированных 1-месячных самок продолжительность неподвижного контакта хвоста с источником как низко-, так и высокоинтенсивного теплового излучения статистически значимо снижалась по сравнению с таким временем, зарегистрированным в группе «потомство-контроль самки 1 месяц», причем к 3-месячному возрасту этот показатель у пренатально стрессированных самок был снижен только при высокоинтенсивном тепловом излучении, вызывающем дискомфорт. У пренатально стрессированных самцов время неподвижного контакта хвоста с источником низко- и высокоинтенсивного теплового излучения было также снижено как в 1-, так и в 3-месячном возрасте. Введение ресвератрола крысам, подвергавшимся стрессу во время беременности, привело к увеличению длительности неподвижного контакта хвоста с источником как низко-, так и высокоинтенсивного теплового излучения у их потомства.

*Показатели гемодинамики и концентрация нитратов/нитритов в сыворотке крови потомства крыс, матери которых получали ресвератрол во время беременности.* У потомства контрольных крыс, получавших ресвератрол, САД, ДАД и СрАД статистически значимо не отличались от таковых у потомства контрольных интактных крыс (табл. 3), лишь у потомства самок, родившихся у крыс группы «контроль+ресвератрол», уменьшалась ЧСС (сравнение с ЧСС потомства самок контрольных интактных крыс). У 3-месячного пренатально стрессированного потомства САД, ДАД и СрАД повышались. У 3-месячного пренатально стрессированного потомства, матери которых получали ресвератрол, САД, ДАД и СрАД не отличались от показателей, зарегистрированных у потомства контрольной интактной группы.

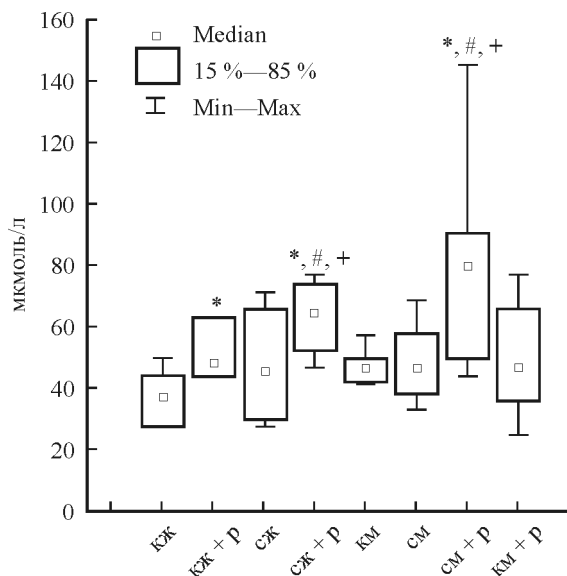




Таблица 3  
Артериальное давление и ЧСС 3-месячного потомства крыс, перенесших стресс в пренатальном периоде

Показатель	Потомство крыс							
	контроль		стресс		контроль+ресвератрол		стресс+ресвератрол	
	самки (n = 9)	самцы (n = 8)	самки (n = 8)	самцы (n = 8)	самки (n = 7)	самцы (n = 7)	самки (n = 8)	самцы (n = 8)
ЧСС, уд/мин	360.0 (340.0; 396.0)	355.0 (315.0; 453.0)	385.0 (358.0; 391.0)	345.5 (327.0; 376.0)	322.0*,# (297.0; 342.0)	327.0 (310.0; 345.0)	344.0 (329.0; 358.0)	325.0 (319.0; 396.0)
САД, мм рт. ст.	108.0 (103.0; 113.0)	112.0 (90.0; 128.0)	120.5* (114.0; 125.0)	126.0* (123.0; 130.0)	108.0# (82.0; 119.0)	118.0 (101.0; 126.0)	102.5# (88.0; 115.0)	115.5# <sup>a</sup> (101.0; 120.0)
ДАД, мм рт. ст.	86.0 (82.0; 97.0)	82.0 (77.0; 97.0)	101.0* (87.0; 116.0)	99.5* (85.0; 115.0)	96.0 (58.0; 105.0)	105.0 (80.0; 108.0)	87.0# (78.0; 99.0)	95.5 (92.0; 102.0)
СрАД, мм рт. ст.	93.0 (91.0; 102.0)	92.0 (81.0; 107.0)	108.5* (97.0; 117.0)	108.0* (94.0; 123.0)	100.0 (64.0; 110.0)	109.0 (87.0; 115.0)	92.0# (81.0; 105.0)	101.5 (95.0; 108.0)

Примечание. \*  $p < 0.05$  — сравнение с группой «потомство—контроль» соответствующего пола; #  $p < 0.05$  — сравнение с группой «потомство—стресс» соответствующего пола; <sup>a</sup>  $p < 0.05$  — сравнение в пределах одной группы между самками и самцами.



Содержание нитратов/нитритов в сыворотке крови крыс, перенесших стресс в пренатальном периоде, мкмоль/л.

\*  $p \leq 0,05$  — сравнение с группой «потомство-контроль» соответствующего пола; #  $p \leq 0,05$  — сравнение с группой «потомство-стресс» соответствующего пола; +  $p \leq 0,05$  — сравнение с группой «потомство-контроль+ресвератрол» соответствующего пола. КЖ — потомство-самки группы «контроль»; КМ — потомство-самцы группы «контроль»; СЖ — потомство-самки группы «стресс»; СМ — потомство-самцы группы «стресс»; КЖ+Р — потомство-самки, чьи матери получали ресвератрол во время беременности и не подвергались стрессу; КМ+Р — потомство-самцы, чьи матери получали ресвератрол во время беременности и не подвергались стрессу; СЖ+Р — потомство-самки, чьи матери получали ресвератрол во время беременности на фоне стресса; СМ+Р — потомство-самцы, чьи матери получали ресвератрол во время беременности на фоне стресса.

Содержание  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в сыворотке крови крыс, перенесших пренатальный стресс, не отличалось от такового, обнаруженного у потомства контрольных интактных животных (см. рисунок). Введение ресвератрола контрольным крысам во время беременности сопровождалось повышением концентрации  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в сыворотке крови их 3-месячного потомства самок, но не самцов. Введение ресвератрола крысам, подвергавшимся хроническому стрессу во время беременности, способствовало увеличению содержания  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в сыворотке крови их 3-месячного потомства.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Введение ресвератрола беременным крысам контрольной группы приводило к ряду изменений у их потомства. Так, изменения, выявленные у самок и самцов в тесте «открытое поле», свидетельствуют о снижении активности и о некотором увеличении тревожности такого потомства. Ряд изменений, например увеличение времени пребывания потомства контрольных крыс, получавших ресвератрол во время беременности, на вращающемся валике ротарода, было присуще только потомству 1-месячных самок. Болевая чувствительность у потомства контрольных крыс под влиянием ресвератрола не изменялась. Ресвератрол не оказывал существенного влияния на системную

гемодинамику потомства контрольных крыс, за исключением уменьшения ЧСС у потомства самок. Эти результаты позволяют предположить наличие достаточно стойких «эпигенетических меток» у половозрелого потомства контрольных крыс, возможно, сформировавшихся еще в антенатальном периоде под влиянием ресвератрола, вводимого в организм беременных крыс и способного проникать через плаценту [3]. Кстати, ранее была показана способность ресвератрола, вводимого лактирующим крысам, вызывать изменения социального и сексуального поведения их половозрелого потомства самцов [13], поэтому к рутинному назначению ресвератрола практически здоровым беременным женщинам, по-видимому, следует подходить с осторожностью. Вместе с тем ресвератрол существенным образом изменял поведение подвергавшихся стрессу самок после рождения у них потомства. Явление каннибализма крысами, подвергавшимися стрессу во время беременности, под влиянием ресвератрола полностью исчезало, что свидетельствует об уменьшении проявления агрессии этими самками. Поскольку уничтожение грызунами своего потомства является результатом нарушений многочисленных нейромедиаторных систем в ЦНС (дофаминергической, серотонинергической, окситоцинергической, норадренергической, опиоидергической и др.) [8], можно полагать, что ресвератрол существенным образом изменял баланс различных нейромедиаторов и нейротрансмиттеров в ЦНС, что способствовало устранению агрессии самок по отношению к своему родившемуся потомству.

Под влиянием ресвератрола у пренатально стрессированного потомства снижался уровень пассивности, выявляемый в тесте «открытое поле», а у 1-месячных самок, перенесших пренатальный стресс, повышалась исследовательская активность. Действие ресвератрола, подобное антидепрессантному, было зарегистрировано в многочисленных экспериментальных исследованиях при использовании различных моделей эмоционально-болевого стресса как у половозрелых животных, так и моделей пренатального стресса [15, 22, 29], причем, как было установлено, механизмами такого действия ресвератрола являются: коррекция дисфункции митохондрий и уменьшение выраженности окислительного стресса в клетках различных отделов головного мозга, в том числе и гиппокампа; изменение активности протеинкиназ Akt и mTOR; усиление экспрессии антиапоптотических белков семейства Bcl и уменьшение гибели клеток ЦНС в результате апоптоза; подавление воспаления «низкой интенсивности» в ЦНС с уменьшением содержания провоспалительных цитокинов в различных отделах мозга, а также повышение образования в ткани мозга мозгового нейротрофического фактора и предупреждение снижения активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы в клетках мозга [1, 5, 15, 21, 26, 28]. Однако наш эксперимент имел отличительную особенность, заключающуюся в том, что ресвератрол, вводимый беременным крысам на фоне моделирования у них хронического стресса, в дозах, значительно меньше традиционно используемых в упомянутых выше экспериментальных исследованиях, предупреждал нарушения поведения их половозрелого (!) потомства, что может быть объяснено появлением у таких крыс стойких «эпигенетических меток» [18] еще в пренатальном периоде, которые, по-видимому, предупреждали нарушение баланса между возбуждающими и тормозными процессами в нейронах ЦНС пренатально стрессированного потомства. Подобные стойкие «эпигенетические метки» вполне могли быть причиной предупреждения ресвератролом нарушений моторно-координационной функции пренатально стрессированного потомства с повышением их физической выносливости. По крайней мере способность ресвератрола повышать физическую активность у стареющих экспери-

ментальных животных, а также животных с сердечной недостаточностью, хорошо известна [20, 24], причем она может быть обусловлена стимуляцией утилизации глюкозы работающими мышцами, усилением потребления мышцами кислорода, подавлением апоптоза в мышечной ткани, коррекцией дисфункции митохондрий, уменьшением выраженности окислительного стресса в мышечной ткани, повышением чувствительности мышечной ткани к инсулину и действием других механизмов. Снижение повышенной чувствительности к эпикритической боли у пренатально стрессированного потомства под влиянием ресвератрола, вводимого их матерям во время беременности, также может быть объяснено изменением экспрессии генов, продукты которых вовлечены в механизмы функционирования ноцицептивной и антиноцицептивной систем у такого потомства. У половозрелых животных с экспериментально вызванной болью анальгетическое действие ресвератрола хорошо известно [25].

Нами также была обнаружена способность ресвератрола, вводимого беременным крысам на фоне стресса, препятствовать повышению артериального давления у их потомства, что согласуется с данными других исследователей [3]. Учитывая тот факт, что у пренатально стрессированных крыс под влиянием ресвератрола, вводимого их матерям, частота сердечных сокращений существенно не изменялась, более низкие цифры артериального давления у них были обусловлены, по-видимому, снижением общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС). Поскольку ОПСС — интегральная величина, которая зависит от эластических свойств сосудистой стенки, баланса между нейрогенными и гуморальными вазоактивными влияниями, реологических свойств крови, мы косвенно проанализировали возможный вклад в это явление лишь NO-зависимых механизмов регуляции сосудистого тонуса, оценив содержание в сыворотке крови потомства стабильных продуктов деградации оксида азота, период полусуществования которого составляет всего несколько миллисекунд — нитратов/нитритов. Их содержание в крови лабораторных животных, получающих стандартную лабораторную диету, косвенно характеризует, во-первых, «валовое» образование NO в ходе NO-синтазной реакции из аминокислоты L-аргинина во всем организме; во-вторых, доступность этой аминокислоты для NO-синтазной реакции из-за возможного разрушения L-аргинина аргиназой; в-третьих, активность ферментных систем, инактивирующих асимметричный диметил-L-аргинин (ADMA), конкурентный ингибитор NO-синтазы [2, 6]. Известно, что в условиях гипоксии стабильные продукты деградации оксида азота могут превращаться в оксид азота, т.е. они являются «запасным пулом», обеспечивающим вазодилатацию в этих условиях. При гипоксии нитриты или нитраты могут восстанавливаться до NO под действием гемоглобина, миоглобина, ксантиноксидоредуктазы, митохондриальной цитохромоксидазы, цитохрома P450 и цитохром-P450-редуктазы [30] с последующей коррекцией одного из важнейших проявлений дисфункции эндотелиоцитов кровеносных сосудов. Способность ресвератрола, вводимого беременным крысам, увеличивать содержание нитратов/нитритов в крови их потомства может быть объяснено несколькими причинами. Во-первых, ресвератрол, активируя гистоновую деацетилазу сиртуин 1 (SIRT1), способен повышать экспрессию и активность эндотелиальной NO-синтазы [27], а, следовательно, увеличивать количество стабильных продуктов деградации оксида азота. Во-вторых, существуют тесные взаимоотношения между компартиментализацией в кавеолах SIRT1, активностью NO-синтазы и активностью фермента протеин-аргинин-метилтрансферазы-1, участвующего в образовании эндогенного ингибитора NO-синтазной реакции ADMA [4], поэтому можно

полагать, что ресвератрол, являясь активатором SIRT1, способен повышать доступность L-аргинина для NO-синтазной реакции, уменьшая концентрацию эндогенного ингибитора NO-синтазной реакции ADMA. Такое действие ресвератрола может быть обусловлено и его способностью повышать активность диметиламиногидролазы [11], фермента, разрушающего ADMA. Обращает на себя внимание стойкость эффектов ресвератрола, которые сохранились у половозрелого потомства крыс, получавших ресвератрол во время беременности. Это можно объяснить стойким изменением под его влиянием экспрессии генов, продукты которых вовлечены в механизмы NO-зависимой регуляции сосудистого тонуса. Однако ресвератрол мог изменять функционирование и других механизмов регуляции артериального давления у крыс, перенесших пренатальный стресс, в частности снижать активность РААС, изменять эластические свойства сосудистой стенки, влиять на баланс между вазоконстрикторами и вазодилататорами [14] и др.

Интересно, что, несмотря на отсутствие изменений артериального давления у самок, родившихся у крыс контрольной группы и получавших ресвератрол во время беременности по сравнению с потомством контрольных интактных крыс, содержание нитратов/нитритов в сыворотке крови крыс группы «потомство-контроль-ресвератрол-самки» возрастало. Вероятно, ресвератрол изменял баланс между вазоконстрикторами и вазодилататорами у потомства контрольных крыс, матери которых получали ресвератрол, определяя формирование нового «steady state» в этих условиях. У такого потомства могло произойти увеличение образования эндотелина-1 в резистивных сосудах, что вполне согласуется с исследованиями, выполненными A. S. Care и соавт. [3]. Тот факт, что содержание нитратов/нитритов в сыворотке крови контрольного потомства под влиянием ресвератрола возрастало только у самок, еще раз подтверждает способность ресвератрола, обладающего свойствами фитоэстрогена, активировать рецепторы к эстрогенам в сосудистой стенке, которые в свою очередь способны приводить к повышению активности eNOS.

Таким образом, нами обнаружена способность ресвератрола, вводимого в организм беременных крыс на фоне моделирования у них хронического стресса, существенным образом ограничивать нарушения поведения и моторно-координационных функций их половозрелого потомства, препятствовать повышению болевой чувствительности и снижению физической выносливости, а также предотвращать повышение артериального давления пренатально стрессированного потомства.

Исследование выполнено в рамках задания темы ГПНИ Республики Беларусь «Оценить отдаленные последствия пренатального стресса на тонус коронарных сосудов и обоснование способов предупреждения выявленных нарушений, 2016—2017 гг.».

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] *Arteaga O., Revuelta M., Urigben L., Alvarez A., Montalvo H., Hilario E.* Pretreatment with resveratrol prevents neuronal injury and cognitive deficits induced by perinatal hypoxia-ischemia in rats. *PLoS One.* 10 (11): e0142424. 2015.

[2] *Buga G. M., Singh R., Pervin S., Rogers N. E., Schmitz D. A., Jenkinson C. P., Cederbaum S. D., Ignarro L. J.* Arginase activity in endothelial cells: Inhibition by N(G)-hydroxy-L-arginine during high-output NO production. *Am. J. Physiol.* 271 (5): H1988—H1998. 1996.

[3] *Care A. S., Sung M. M., Panahi S., Gragasin F. S., Dyck J. R. B., Davidge S. T., Bourque S. L.* Perinatal resveratrol supplementation to spontaneously hypertensive rat dams mitigates the development of hypertension in adult offspring. *Hypertension*. 67: 1038—1044. 2016.

[4] *Charles S., Raj V., Arokiaraj J., Mala K.* Caveolin 1/protein arginine methyltransferase/sirtuin 1 axis as a potential target against endothelial dysfunction. *Pharmacol. Res.* 119: 1—11. 2017.

[5] *Chen W. J., Du J. K., Hu X., Yu Q., Li D. X., Wang C. N., Zhu X. Y., Liu Y. J.* Protective effects of resveratrol on mitochondrial function in the hippocampus improves inflammation-induced depressive-like behavior. *Physiol Behav.* 182: 54—61. 2017.

[6] *Chen K., Pittman R. N., Popel A. S.* Nitric oxide in the vasculature: where does it come from and where does it go? A quantitative perspective. *Antioxid. Redox Signal.* 10: 11 895—11 980. 2008.

[7] *Das S., Lin H. S., Ho P. C., Ng K. Y.* The impact of aqueous solubility and dose on the pharmacokinetic profiles of resveratrol. *Pharmaceut. Res.* 25 (11): 2593—2600. 2008.

[8] *DeSantis D. T., Schmaltz L. W.* The mother-litter relationship in developmental rat studies: cannibalism vs caring. *Dev. Psychobiol.* 17(3): 255—262. 1984.

[9] *Dohadwala M. M., Vita J. A.* Grapes and cardiovascular disease. *J. Nutr.* 139 (3): 1788S—1793S. 2009.

[10] *Dong E., Dzitoyeva S. G., Matrisciano F., Tueting P., Grayson D. R., Guidotti A.* Brain-derived neurotrophic factor epigenetic modifications associated with schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. *Biol. Psychiatry.* 77(6): 589—596. 2015.

[11] *Frombaum M., Therond P., Djelidi R., Beaudeau J. L., Bonnefont-Rousselot D., Borderie D.* Piceatannol is more effective than resveratrol in restoring endothelial cell dimethylarginine dimethylaminohydrolase expression and activity after high-glucose oxidative stress. *Free Radic. Res.* 45 (3): 293—302. 2011.

[12] *Gluckman P. D., Hanson M. A., Cooper C., Thornburg K. L.* Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N. Engl. J. Med.* 359: 61—73. 2008.

[13] *Henry L. A., Witt D. M.* Effects of neonatal resveratrol exposure on adult male and female reproductive physiology and behavior. *Neurotransmitter (Houst).* 2: e615. 2015.

[14] *Lee D. I., Acosta C., Anderson C. M., Anderson H. D.* Peripheral and cerebral resistance arteries in the spontaneously hypertensive heart failure rat. *Molecules.* 22 (380): 1—18. 2017.

[15] *Liu S., Li T., Liu H., Wang X., Bo S., Xie Y., Bai X., Wu L., Wang Z., Liu D.* Resveratrol exerts antidepressant properties in the chronic unpredictable mild stress model through the regulation of oxidative stress and mTOR pathway in the rat hippocampus and prefrontal cortex. *Behav. Brain Res.* 302: 191—199. 2016.

[16] *Louey S., Thornburg K.L.* The prenatal environment and later cardiovascular disease. *Early Hum. Dev.* 81 (9): 745—751. 2005.

[17] *Mir S. A.* An improved zinc reduction method for direct determination of nitrate in presence of nitrite. *As. J. Chem.* 19 (7): 5703—5710. 2007.

[18] *Isac S., Panaitescu A. M., Spataru A., Iesanu M., Totan A., Udriste A., Cucu N., Peltecu G., Zagrean L., Zagrean A. M.* Trans-resveratrol enriched maternal diet protects the immature hippocampus from perinatal asphyxia in rats. *Neurosci. Lett.* 653: 308—313. 2017.

[19] *Plana-Ripoll O., Liu X., Momen N. C., Parner E., Olsen J., Li J.* Prenatal exposure to maternal stress following bereavement and cardiovascular disease: A nationwide population-based and sibling-matched cohort study. *Eur. J. Prevent. Cardiol.* 23 (10): 1018—1028. 2016.

[20] *Rodryguez-Bies E., Tung B. T., Navas P., Lypez-Lluch G.* Resveratrol primes the effects of physical activity in old mice. *Br. J. Nutr.* 116 (6): 979—988. 2016.

[21] *Sahu S. S., Madhyastha S., Rao G. M.* Neuroprotective effect of resveratrol against prenatal stress induced cognitive impairment and possible involvement of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 103 (3): 520—525. 2013.

[22] *Samardzich J., Jadzich D., Radovanovich M., Jancich J., Obradovich D. I., Goikovich-Bukarica L., Schepanovich R.* The effects of resveratrol on rat behaviour in the forced swim test. *Spr. Arch. Celok. Lek.* 141 (9—10): 582—585. 2013.

[23] *Skrovankova S., Sumczynski D., Mlcek J., Jurikova T., Sochor J.* Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *Int. J. Mol. Sci.* 16 (10): 24 673—24 706. 2015.

[24] *Sung M. M., Byrne N. J., Robertson I. M., Kim T. T., Samokhvalov V., Levasseur J., Soltys C. L., Fung D., Tyreman N., Denou E., Jones K. E., Seubert J. M., Schertzer J. D., Dyck J. R.* Resveratrol improves exercise performance and skeletal muscle oxidative capacity in heart failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 312 (4): H842—H853. 2017.

[25] *Wang G., Hu Z., Song X., Cui Q., Fu Q., Jia R., Zou Y., Li L., Yin Z.* Analgesic and anti-inflammatory activities of resveratrol through classic models in mice and rats. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 2017: 5197567. 2017.

[26] *Wang X., Xie Y., Zhang T., Bo S., Bai X., Liu H., Li T., Liu S., Zhou Y., Cong X., Wang Z., Liu D.* Resveratrol reverses chronic restraint stress-induced depression-like behaviour: involvement of BDNF level, ERK phosphorylation and expression of Bcl-2 and bax in rats. *Brain Res. Bull.* 125: 134—143. 2016.

[27] *Xia N., Strand S., Schlufter F., Siuda D., Reifenberg G., Kleinert H., Furstermann U., Li H.* Role of SIRT1 and FOXO factors in eNOS transcriptional activation by resveratrol. *Nitric Oxide.* 32: 29—35. 2013.

[28] *Yazir Y., Utkan T., Gacar N., Aricioglu F.* Resveratrol exerts anti-inflammatory and neuroprotective effects to prevent memory deficits in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Physiol. Behav.* 138: 297—304. 2015.

[29] *Zhang Z. S., Qiu Z. K., He J. L., Liu X., Chen J. S., Wang Y. L.* Resveratrol ameliorated the behavioral deficits in a mouse model of post-traumatic stress disorder. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 161: 68—76. 2017.

[30] *Zhao Y., Vanhoutte P. M., Leung S. W. S.* Vascular nitric oxide: beyond eNOS. *J. Pharmacol. Sci.* 129: 83—94. 2015.

Поступила 7 XII 2017  
После доработки 20 II 2018