
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ГОРМОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ ПОТОМКОВ ПРЕНАТАЛЬНО
СТРЕССИРОВАННЫХ САМЦОВ КРЫС С МОДЕЛИРОВАНИЕМ
ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА
В ПЕРИОД СПЕРМАТОГЕНЕЗА

© 2025 г. С. Г. Пивина¹, В. К. Акулова¹, Г. И. Холова¹, Н. Э. Ордин^{1,*}

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: neo@infran.ru

Поступила в редакцию 10.07.2025 г.

После доработки 31.07.2025 г.

Принята к публикации 04.08.2025 г.

В настоящее время возрастает число исследований, демонстрирующих трансгенерационное влияние стресса матери и отца на различные функции потомков. Эффекты материнского (пренатального) стресса могут передаваться следующим поколениям потомков по мужской линии. Различные психопатологии у мужчин, такие как посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР), проявляются у их детей в виде различных нарушений после рождения. В связи с этим цель настоящего исследования состояла в изучении последствий моделирования ПТСР (парадигма "стресс–рестресс") у пренатально стрессированных (ПС) самцов крыс до спаривания с интактными самками на активность гипоталамо-гипофизарно-адренокортиkalной системы (ГГАС) и содержание в крови половых гормонов потомков обоего пола. Исследование выполнено не только на потомках ПС-самцов и потомках ПС-самцов с моделированием ПТСР до зачатия, но и на аналогичных группах потомков, полученных от контрольных самцов. Показано, что уже на 5-й день жизни наблюдается изменение активности ГГАС у потомков стрессированных самцов, преимущественно у потомков самцов. У половозрелых потомков независимо от пола и от группы стрессированных отцов обнаружено снижение базальной и стрессорной активности ГГАС и ускоренное ее торможение после стрессорной активации. Выявлено снижение уровня тестостерона у потомков контрольных и ПС-самцов с моделированием ПТСР, а также снижение уровня эстрадиола у самок – потомков ПС-самцов с моделированием ПТСР. Сделано заключение, что эффекты моделирования ПТСР у самцов крыс в период сперматогенеза на активность ГГАС их половозрелых потомков сходны и не зависят от пола потомков, и от того, были ли самцы стрессированы пренатально. Сходное влияние ПТСР-подобное состояние самцов оказывает на уровень тестостерона потомков, что может снижать их репродуктивные способности в неблагоприятных условиях среды.

Ключевые слова: пренатальный стресс, отцовский стресс, посттравматическое стрессовое расстройство, потомки, кортикостерон, тестостерон, эстрадиол, крыса

DOI: 10.7868/S2658655X25120048

ВВЕДЕНИЕ

Интерес исследователей к проблеме влияния материнского (пренатального) стресса на физиологические функции потомков продолжает оставаться высоким. Связно это с тем, что последствия повышенного уровня глюкокортикоидных гормонов в течение беременности проявляются нарушениями в гормональных системах, поведении и когнитивных способностей не только первого поколения потомков, но и последующих поколений [1–3]. Следует отметить, что последствия материнского стресса могут передаваться из поколения в поколение не только по женской, но и по мужской линии [4, 5].

Вместе с тем в литературе появляется все больше доказательств того, что неблагоприятные воздействия на мужской организм до зачатия также имеют негативные последствия для здоровья потомков [6], при этом выявленные нарушения могут сохраняться на протяжении нескольких поколений [7]. Не только стрессорные воздействия, но и различные психопатологии у мужчин проявляются у их детей в виде низкого веса при рождении, различных изменений нейронального развития и многих других нарушений [8].

Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) у мужчин, сопряженное с сильным травматизирующим стрессовым воздействием, также имеет значение для здоровья их детей. Было показано, что у потомков ветеранов Иракско-Иранской войны с ПТСР уровень кортизола значительно ниже, что свидетельствует о нарушенной регуляции этого гормона, потенциально унаследованной в результате отцовского ПТСР [9]. Кроме того, ПТСР у отцов было связано с более высоким уровнем метилирования ДНК промотора гена 1 подсемейства ядерных рецепторов группы C 3 (NR3C1) у потомков людей, переживших Холокост, что может изменять чувствительность глюкокортикоидных рецепторов и влиять на реакцию на стресс [10]. Сходные данные были получены и в экспериментальных исследованиях на грызунах. С использованием различных моделей стресса было показано, что хронический стресс у отцов связан с поведенческими и метаболическими нарушениями у потомства F1, при этом метилирование ДНК в гиппокампе и фронтальной коре потомства изменялось в зависимости от пола [11]. Кроме того, наблюдалось снижение плотности синапсов и изменение экспрессии генов в гиппокампе и префронтальной коре у потомства отцов, находящихся в хроническом стрессе [12]. Также было показано, что хроническое стрессирование самцов мышей, создающее повышенный уровень кортикостерона в течение всего периода сперматогенеза, проявляется у их половозрелых потомков обоего пола в снижении стрессорной реактивности гипotalамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГГАС). Полученные данные позволили авторам рассматривать стресс отца как фактор риска развития ПТСР у их потомков [13]. Воздействие глюкокортикоидами на отцовскую популяцию также повлияло на метилирование ДНК и экспрессию генов стероидных рецепторов в гиппокампе и почках потомства F1 [14].

Мы провели собственные исследования влияния моделирования ПТСР у самцов до спаривания с интактными самками на поведение, память и активность ГГАС у их потомков обоего пола. Было показано, что нарушения поведения и памяти проявляются в основном у самцов – потомков отцов с ПТСР-подобным состоянием [15, 16]. Вместе с тем у самцов и самок, родившихся от самцов с моделированием ПТСР в период сперматогенеза, наблюдалось снижение базальной и стрессорной реактивности ГГАС в ответ на 30-минутную иммобилизацию, что сопровождалось увеличением экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в гиппокампе и 2-м слое медиальной префронтальной коры [17, 18]. Кроме того, у этих крыс наблюдали более низкий уровень кортикостерона через 180 мин после окончания стрессирования, это позволило нам предположить, что у крыс – потомков стрессированных отцов – торможение ГГАС после стрессорной активации ускорено.

Представляет определенный интерес проведение подобного рода исследований и на потомкахпренатально стрессированных (ПС) самцов, у которых проведено моделирование ПТСР в период сперматогенеза. Такие самцы характеризуются измененными гормональными функциями не только в активности ГГАС, что проявляется уже после рождения на 5-й день жизни, но и в репродуктивной сфере [19–21], а также демонстрируют повышенную чувствительность к травматическому стрессу [22, 23]. Кроме того, нами был установлен трансгенерационный эффект ПС на память потомков, зависящий от пола, а сам ПС у самцов способствует ухудшению памяти их потомков, если таких самцов дополнительно стрессировали до зачатия [24].

В связи с этим мы провели изучение последствий моделирования ПТСР у ПС-самцов до спаривания с интактными самками на активность ГГАС и содержание в крови половых гормонов их половозрелых потомков обоего пола. Активность ГГАС (базальную и стрессорную) исследовали в динамике кортикостеронового ответа на иммобилизационный стресс, что позволяет судить не только о максимальной выраженности стрессорного ответа, но и о торможении ГГАС после стрессорной активации. С этой целью у крыс производили забор крови не только непосредственно после окончания стрессорного воздействия, но и через 60 и 180 мин. Уровень кортикостерона также был изучен у потомков таких самцов на 5-й день жизни. Кроме того, у самих ПС-отцов мы исследовали уровень тестостерона перед спариванием их с самками с целью выяснить последствия моделирования ПТСР на репродуктивные функции самцов. В данном исследовании участвовали не только потомки ПС-самцов и потомки ПС-самцов с моделированием ПТСР до зачатия, но и аналогичные группы потомков, полученные от контрольных самцов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на самцах и самках крыс Вистар, а также потомстве, полученном от этих животных. Крысы были предоставлены ЦКП “Биоколлекция Института физиологии им. И.П. Павлова РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем”. Животных содержали в пластиковых клетках по 5–6 особей на стандартной диете (гранулированный комбикорм) при свободном доступе к воде и пище и 12-часовом режиме смены дня и ночи (9-00/21-00).

Первородящих половозрелых самок ($n = 10$) массой тела 200–220 г саживали попарно с половозрелыми самцами ($n = 10$) массой тела 230–250 г и далее осуществляли ежедневный забор влагалищных мазков для обнаружения сперматозоидов и контроля дня наступления беременности. Забеременевших самок сразу отсаживали от самцов и далее содержали группой по 5 животных. Затем беременных самок делили на 2 группы, одну из которых с 15-й по 19-й день беременности подвергали ежедневной часовой иммобилизации в узких пластиковых пеналах по методике, описанной ранее [22]. Вторую группу самок оставляли интактными. На 17-й день беременности самок рассаживали в клетки поодиночке, фиксировали день родов. На 1–2-й день после родов пометы выравнивали до 8–10 крысят с примерно равным соотношением полов. Самок содержали с пометами до 28-го дня жизни крысят. Крысят рассаживали в группы по 5–6 животных в соответствии с полом. Дальнейшие эксперименты выполняли на самцах, которые родились от интактных или стрессированных самок ((ПС) самцы).

По достижении самцами – потомками стрессированных во время беременности или интактных самок – возраста 2,5 месяца (период половозрелости) их делили на 4 группы: 1-я группа – потомки интактных самок и самцов (контроль); 2-я группа – потомки интактных самок и самцов, которых стрессировали в период сперматогенеза (контроль + стресс); 3-я группа – ПС-самцы; 4-я группа – ПС-самцы с дополнительным стрессированием в период сперматогенеза (ПС + стресс). В каждой группе было по 10 самцов.

Формирование ПТСР-подобного состояния у самцов осуществляли с использованием парадигмы “стресс–рестресс”, как описано ранее [22]. В данной модели крыс первоначально подвергали комбинированному стрессорному воздействию, состоящему из 2 ч иммобилизации, принудительному плаванию в течение 20 мин в стеклянных цилиндрах, заполненных водой с температурой 24 ± 2 °С. Далее самцов подвергали экспозиции эфиром в течение 1 мин. На 7-е сутки после первоначального стрессирования у самцов осуществляли “рестресс”, который заключался в иммобилизации в течение 30 мин. В данной модели ПТСР патологическое состояние, по крайней мере у ПС-самцов, сохранялось до 1 месяца [23].

На 30-е сутки после комбинированного стрессорного воздействия у самцов четырех экспериментальных групп ($n = 10$ в каждой группе) осуществляли забор крови из хвостовой вены для определения содержания в ней тестостерона. Полученную кровь центрифугировали (1000 g, 20 мин, 4 °C). Плазму хранили при температуре –20 °C.

Затем самцов четырех групп еще через 15 суток поодиночке подсаживали к одной рецептивной самке, находящейся в стадии проэструс–эструс. На следующий день у самок забирали вагинальные мазки с целью обнаружения в них сперматозоидов и контроля дня наступления беременности. На 17-й день беременности самок рассаживали в индивидуальные клетки. После родов число крысят в пометах выравнивали до 8–10 особей с равным соотношением полов. Пометы содержали совместно с матерью до 28-го дня жизни, а далее по 4–6 крыс в клетке в соответствии с полом, группой и отцом. Схема получения потомков самцов 4-х экспериментальных групп представлена на рис. 1.

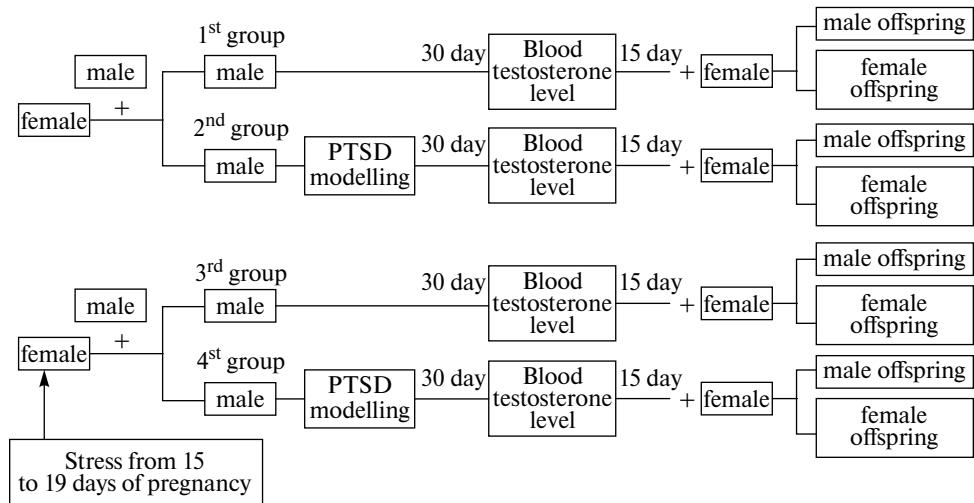


Рис. 1. Схема эксперимента получения потомков отцов 4-х экспериментальных групп крыс.

Часть крысят обоего пола (по 1 из каждого помета, $n = 10$ в каждой группе) на 5-й день жизни декапитировали и собирали туловищную кровь. Полученную кровь центрифугировали (1000 g, 20 мин, 4 °C). Плазму хранили при температуре –20 °C до момента определения содержания в ней кортикостерона.

Дальнейшие эксперименты выполняли на половозрелых потомках (масса 220–250 г – самцы и 200–230 г – самки) четырех групп самцов. Экспериментальные группы

формировали таким образом, чтобы в каждой группе присутствовало по одному животному соответствующего пола из одного помета и от одного отца.

Активность ГГАС изучали в динамике гормонального ответа на 20-минутную иммобилизацию. С этой целью у животных в течение не более 3 мин производили забор крови из хвостовой вены (0 мин, базальный уровень кортикостерона), затем крыс помещали на 20 мин в узкий пластиковый пенал, ограничивающий подвижность. По окончании времени иммобилизации, не вынимая крысу из пенала, производили забор крови из хвостовой вены. Затем крыс помещали в домашние клетки и далее через 60 и 180 мин после начала стрессирования производили повторные заборы крови из хвостовой вены. Каждая группа крыс каждого пола состояла из 10 животных.

Кровь, полученную из хвостовой вены, центрифугировали, как описано выше, и хранили при температуре -20°C до момента определения содержания в ней кортикостерона.

Через 7 суток после экспериментов по изучению активности ГГАС потомков обеих групп декапитировали, собирали тулowiщную кровь для определения содержания половых гормонов: тестостерона у самцов и эстрадиола у самок. Забор сыворотки производили строго в стадию диэструс. Кровь центрифугировали, плазму хранили так, как описано выше.

Уровень кортикостерона, тестостерона и эстрадиола определяли в плазме крови методом ИФА с использованием стандартных наборов производства "ХЕМА" (Россия) и анализатор Multickan FS (Thermo Fisher Scientific, Финляндия). Анализ выполнялся согласно протоколу производителя.

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ "STATISTICA 12.0". Оценку нормальности распределения данных проводили с использованием теста Шапиро-Уилка. Для анализа динамики стрессорной реактивности ГГАС применяли двухфакторный ANOVA для повторных измерений (группа (отец) \times уровень кортикостерона в зависимости от времени начала стрессирования) с последующими парными сравнениями *post hoc* (тест Тьюки) значений уровня кортикостерона в каждой временной точке у отдельных групп животных. Уровень кортикостерона у 5-дневных крысят, уровень тестостерона в крови отцов, а также уровень тестостерона и эстрадиола в крови половозрелых потомков анализировали с применением однофакторного ANOVA с последующими парными сравнениями *post hoc* (тест Тьюки) значений для каждой группы животных. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$. Данные представлены в виде $M \pm m$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение изменения уровня тестостерона в крови отцов четырех экспериментальных групп и его анализ с использованием однофакторного ANOVA показал и наличие различий между группами самцов ($F_{3,39} = 6.7, p = 0.001$). *Post hoc* анализ выявил статистически значимые различия между потомками контрольных и потомками ПС-отцов, у последних уровень тестостерона был повышен (рис. 2). У самцов 3-й и 4-й групп, которых стрессировали в период сперматогенеза, уровень тестостерона оказался сниженным.

Анализ содержания кортикостерона на 5-й день жизни потомков с использованием однофакторного ANOVA показал, что у самцов имеются различия в зависимости от того, какой был отец ($F_{3,39} = 5.7, p = 0.005$). Дальнейший *post hoc* анализ выявил статистически значимые различия между потомками контрольных и потомками ПС-отцов, у последних уровень кортикостерона был повышен (рис. 3а). Повышенный уровень кортикостерона также был обнаружен у потомков контрольных отцов, стрессированных в период сперматогенеза, тогда как у потомков ПС-самцов с дополнительным стрессированием

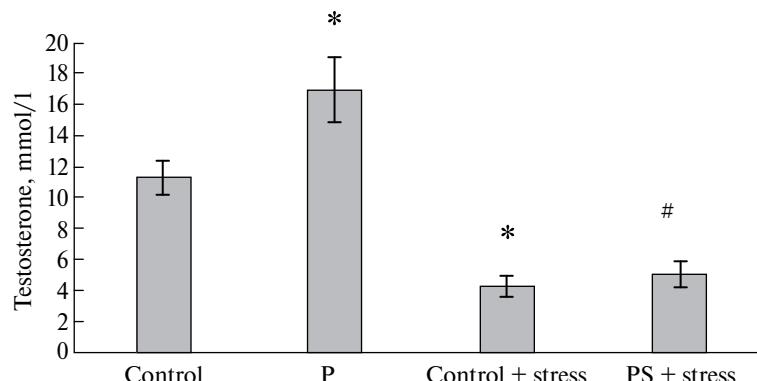


Рис. 2. Уровень тестостерона (нмоль/л) в крови отцов четырех экспериментальных групп крыс. * – статистически значимые отличия от контрольных самцов ($p < 0.05$). # – статистически значимые различия между (ПС) самцами и ПС-самцами, стрессированными в период сперматогенеза ($p < 0.01$). $n = 10$ в каждой группе самцов.

до зачатия уровень кортикостерона был снижен, хотя эти различия и не достигали принятого уровня значимости ($p = 0.05$). Вместе с тем у потомков самок существенных различий между группами выявлено не было ($F_{3,39} = 0.17$, $p = 0.2$, рис. 3б).

Результаты анализа характера активности ГГАС половозрелых потомков отцов четырех экспериментальных групп крыс представлены на рис. 4. Двухфакторный дисперсионный анализ показал достоверное влияние пола животных на динамику стрессорного выброса кортикостерона у потомков контрольных ($F_{(2,59)} = 5.2$, $p = 0.009$) и ПС ($F_{(2,59)} = 8.8$, $p = 0.0009$) отцов. При этом у потомков стрессированных отцов межполовых различий в активности ГГАС выявлено не было как у потомков контрольных отцов, стрессированных в период сперматогенеза ($F_{(2,59)} = 1.1$, $p = 0.3$), так и у потомков ПС-самцов с дополнительным стрессированием до зачатия ($F_{(2,59)} = 2.3$, $p = 0.1$). Таким образом, стрессирование отцов в период сперматогенеза нивелировало различия между потомками самцами и самками в характере стрессорной активности ГГАС.

Выявлено достоверное взаимодействие факторов отец на уровень кортикостерона в зависимости от времени начала стрессирования у потомков самцов ($F_{(3,159)} = 26.3$, $p < 0.0000$) и взаимодействие этих двух факторов ($F_{(9,159)} = 4.96$, $p < 0.001$). *Post hoc* анализ различий между группами в каждой временной точке у самцов показал, что у потомков стрессированных отцов снижается не только базальный уровень кортикостерона, но и максимальный стрессорный ответ (уровень кортикостерона через 20 мин после начала иммобилизации). Кроме того, у этих потомков торможение стрессорной активации ГГАС наблюдали уже через 60 мин после начала стрессирования. Примечательно, что у потомков ПС-самцов отцов выявлено отставленное торможение стрессорной активности ГГАС, поскольку через 180 мин после начала иммобилизационного стресса их уровень кортикостерона не возвращался к базальному уровню (рис. 4а).

У потомков самок также выявлено влияние отца на характер кортикостеронового ответа ГГАС на стресс ($F_{(3,159)} = 26.3$, $p < 0.0000$) и взаимодействие указанных факторов ($F_{(9,159)} = 9.9$, $p < 0.0000$). *Post hoc* анализ различий между группами в каждой временной точке у самцов показал, что потомки ПС-отцов характеризуются повышенной стрессорной реaktivностью в 20-минутной точке. При этом у потомков самок стрессированных отцов характер базальной и стрессорной активности ГГАС изменялся аналогичным образом, как и у потомков самцов, а именно, снижался базальный и стрессорный уровни кортикостерона, а также наблюдали ускоренное торможение ГГАС после стрессорной активации (рис. 4б).

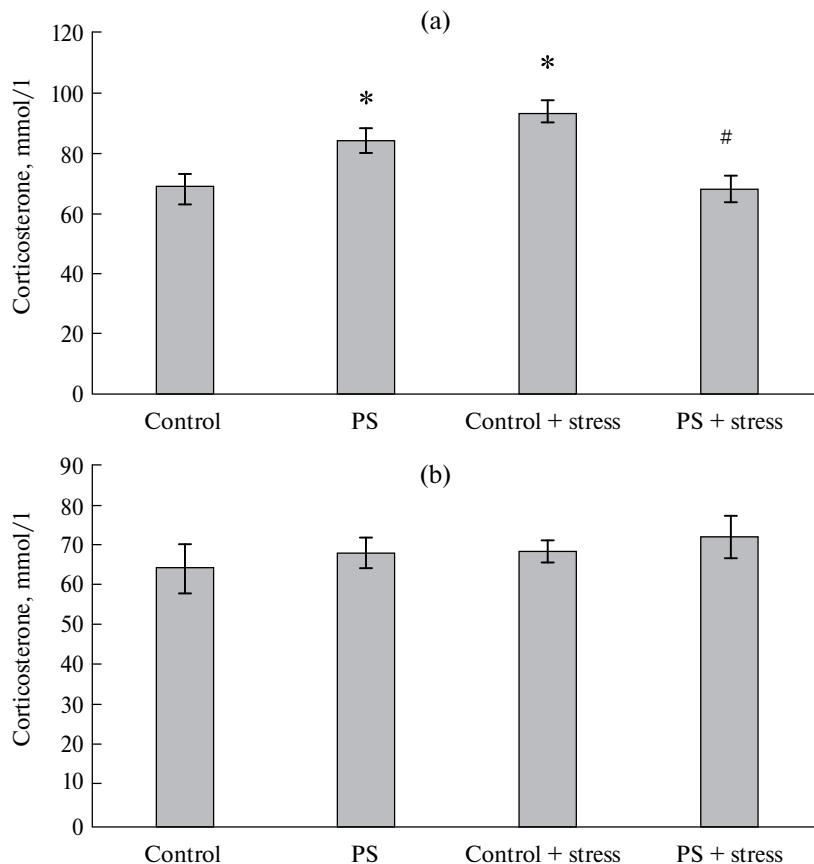


Рис. 3. Уровень кортикостерона (нмоль/л) в крови на 5-й день жизни у потомков отцов четырех экспериментальных групп крыс. (а) – потомки самцы; (б) – потомки самки. * – статистически значимые отличия от потомков контрольных отцов ($p < 0.05$). # – отличия от потомков пренатально стрессированных (PS) отцов ($p = 0.05$). В каждой группе потомков самцов и самок число животных составило 10 особей.

Анализ с применением однофакторного ANOVA уровня тестостерона в крови самцов исследованных групп, результат которого представлены на рис. 4, показал статистически значимое различие между группами по данному показателю ($F_{3,39} = 6.1$, $p = 0.01$). Последующий статистический анализ выявил увеличение уровня тестостерона у потомков пренатально стрессированных самцов. Потомки пренатально стрессированных самцов, которых стрессировали в период сперматогенеза, напротив, демонстрировали сниженный уровень тестостерона по сравнению как с контрольными самцами, так и с пренатально стрессированными самцами (рис. 5а). У потомков самок также обнаружено влияние отца на уровень эстрадиола ($F_{3,39} = 4.1$, $p = 0.04$). Однако сниженнный уровень эстрадиола отмечен только у потомков ПС-самцов с дополнительным стрессированием в период сперматогенеза (рис. 5б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования показали, что воздействие стресса на самцов отцов проявляется в длительном снижении уровня тестостерона вплоть до месяца, причем как у самцов, рожденных от контрольных самцов, так и у самцов, рожденных от стрессированных

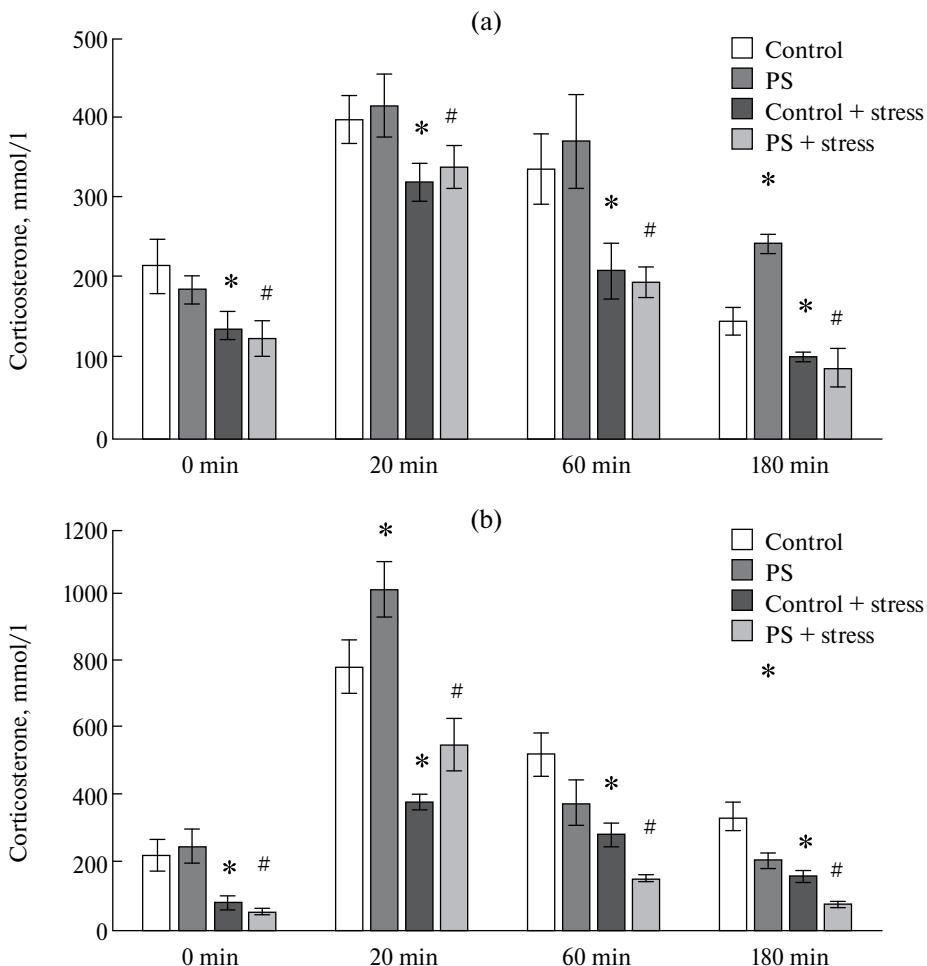


Рис. 4. Характер базальной и стрессорной активности ГГАС потомков отцов 4 экспериментальных групп. (а) – потомки самки; (б) – потомки самцы. По вертикали – уровень кортикостерона в плазме крови (нмоль/л), по горизонтали – время от начала 20-минутной иммобилизации. * – статистически значимые отличия от потомков контрольных отцов ($p < 0.05$). # – статистически значимые различия между потомками ПС-отцов и потомками ПС-отцов, стрессированных в период сперматогенеза ($p < 0.01$). В каждой группе потомков самцов и самок число животных составило 10 особей.

во время беременности самок. Интересно, что у потомков ПС-самцов уровень тестостерона был повышен, так же как у их отцов [21], что свидетельствует о возможности “наследования” механизмов, обеспечивающих повышенный уровень тестостерона в результате пренатального стресса. Несмотря на снижение уровня тестостерона у стрессированных в течение сперматогенеза самцов, они сохраняли способности оплодотворять самок, так как мы смогли получить потомство от всех групп самцов. Тем не менее и само стрессорное воздействие, и, вероятно, сниженный уровень тестостерона оказал и существенное влияние на гормональные функции их потомков обоего пола.

Так, уже на 5-й день жизни крысят нами выявлено изменение уровня кортикостерона в их крови. Причем такие изменения обнаружены преимущественно у самцов – потомков контрольных и ПС-самцов, стрессированных до зачатия. Тем не менее эффекты

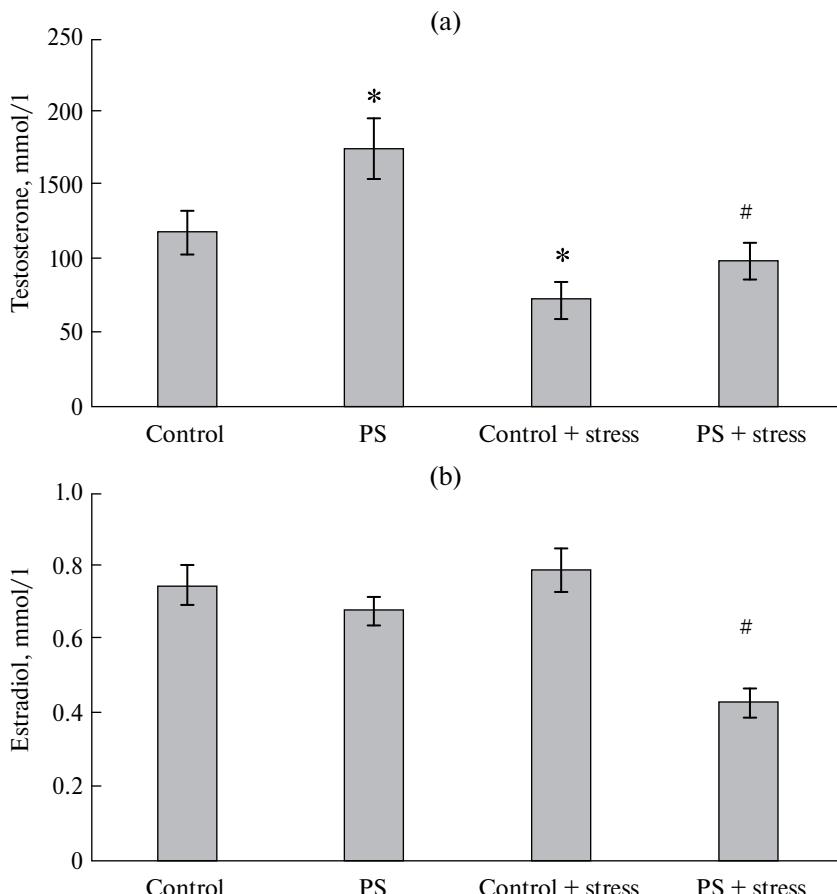


Рис. 5. Уровни тестостерона (а) и эстрадиола (б) в крови потомков отцов четырех экспериментальных групп. * – статистически значимые отличия от потомков контрольных самцов ($p < 0.05$). # – статистически значимые различия между потомками ПС отцов и потомками ПС отцов, стрессированных в период сперматогенеза ($p < 0.05$). В каждой группе потомков самцов и самок число животных составило 10 особей.

стресса отцов у потомков контрольных и ПС-самцов различались. У первых уровень кортикостерона был повышен, а у вторых снижен, хотя это изменение и не достигало принятого уровня значимости ($p = 0.05$). Примечательно, что у потомков ПС-отцов без стрессирования в период сперматогенеза уровень гормона был повышен, что ранее нами было обнаружено и у самих ПС-самцов [19]. Хотя подобное повышение уровня кортикостерона ранее мы обнаружили и у самок, рожденных от стрессированных во время беременности матерей [19], в данном исследовании такого эффекта у самок – потомков ПС-самцов, мы не выявили. Также влияния ПТСР-подобного состояния отцов на содержание кортикостерона в крови потомков самок на 5-й день жизни обнаружено не было.

Наиболее существенное влияние ПТСР-подобного состояния отцов в данном исследовании мы показали в отношении активности ГГАС их половозрелых потомков обоего пола. Причем такое влияние было односторонним независимо от пола потомков и от группы отцов (контрольные или ПС-самцы). Обнаружено снижение базальной и стрессорной активности ГГАС, а торможение этой гормональной оси после стрессорной активации было ускорено, о чем свидетельствовал более низкий уровень

кортикостерона через 60 мин после начала иммобилизационного стресса. Низкий уровень кортизола и повышенная чувствительности оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники были обнаружены в многочисленных исследованиях и у больных ПТСР, хотя и не во всех клинических случаях [25–27].

Влияние родительского ПТСР на активность ГГАС их потомков продемонстрированы в клинических и экспериментальных исследованиях. Так, в ряде работ показано влияние родительского ПТСР на чувствительность ГГАС у потомства, а именно повышенное подавление кортизола и снижение уровня кортизола [10]. Хотя материнское ПТСР оказывает большее влияние на уровень кортизола у потомства по сравнению с отцовским ПТСР [28], отцовское ПТСР также имеет значительные риски для потомства. В период внутриутробного развития, у потомства повышается вероятность передачи эпигенетических модификаций от матери к потомству, вместе с тем отцовский стресс также может изменять эпигенетические процессы в сперматозоидах, которые оплодотворяют яйцеклетку. Данные свидетельствуют о том, что отцовский стресс может приводить к модификациям гистонов, метилированию ДНК и изменениям в некодирующих РНК в сперматозоидах [13, 29]. Эти результаты указывают на то, что эпигенетические изменения в результате отцовского стресса и ПТСР могут внедряться в зиготы, осуществляя программирование определенных функций с самого начала [4].

Hanada с соавт. выполнили интересное исследование на морских свинках, в котором показали, что повышенный уровень глюкокортикоидных гормонов в течение беременности приводит к изменению уровней микроРНК в сперме, которое проявляется по крайней мере в течение двух поколений [30], то есть эффекты пренатальноого стресса и повышенного уровня глюкокортикоидов в этот период развития могут передаваться по отцовской линии. В связи с этим следует обратить внимание, что у самок – потомков ПС-самцов без моделирования ПТСР – стрессорная реактивность повышена через 20 мин после начала стрессирования, а у самцов – потомков отцов этой же группы – нарушено торможения ГГАС по механизму отрицательной обратной связи, о чем свидетельствовал более высокий уровень кортикостерона через 180 мин после начала иммобилизации. Сходный характер стрессорной реактивности ГГАС и ее торможение после стрессорной активации ранее нами и другими авторами было показано для ПС-самцов и самок [20, 31]. Таким образом, мы выявили, что эффекты ПС на динамику ответа ГГАС на иммобилизационный стресс проявляются и у второго поколения обоего пола ПС-самцов.

Трансгенерационный эффект ПС проявляется и в отношении уровня половых гормонов в крови. Ранее мы показали увеличение уровня тестостерона у ПС-самцов [21]. В настоящем исследовании показано увеличение уровня тестостерона у их потомков мужского пола. Потомки ПС-самцов, у которых моделировали ПТСР в период сперматогенеза, напротив, демонстрировали сниженный уровень тестостерона по сравнению как с контрольными, так и с ПС-самцами. Сходное изменение уровня тестостерона нами обнаружено и у потомков контрольных самцов с моделированием ПТСР до спаривания. Lopes с соавт. также показали возможность трансгенерационного изменения экспрессии ряда генов в семенниках самцов крыс нескольких поколений, родившихся от ПС-самцов [5].

Обращает на себя внимание тот факт, что у самок – потомков контрольных отцов с моделированием ПТСР до зачатия – уровень эстрадиола существенно не меняется, и напротив, у самок – потомков ПС-самцов с дополнительным стрессированием в период сперматогенеза – уровень эстрадиола снижается. Вероятно, стресс отцов оставляет в их сперме определенные эпигенетические следы, которые приводят к нарушению синтеза тестостерона и эстрадиола у их потомков, а ПС у отцов усиливает такой эффект. В целом такое действие стресса отцов на гормональный профиль их потомков может быть направлено на снижение репродуктивных способностей в неблагоприятных условиях окружающей среды. Однако данные предположения нуждаются в дальнейших исследованиях.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование экспериментов (О. Н. Э.), написание и редактирование манускрипта (О. Н. Э., П. С. Г.), подготовка экспериментальных животных (Х. Г. И., А. В. К.), сбор данных (П. С. Г., Х. Г. И., Ш. Е. Д.), обработка данных (А. В. К., Х. Г. И.)

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (ПТНИ № 1023032400236-8-3.1.4, рег. № НИОКР 124020100113-1).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол № 29 от 20.03.2023 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lubrano C, Parisi F, Cetin I* (2024) Impact of maternal environment and inflammation on fetal neurodevelopment. *Antioxidants (Basel)* 13: 453.
<https://doi.org/10.3390/antiox13040453>
2. *Jagtap A, Jagtap B, Jagtap R., Lamture Y, Gomase K* (2023) Effects of Prenatal Stress on Behavior, Cognition, and Psychopathology: A Comprehensive Review. *Cureus* 15: e47044.
<https://doi.org/10.7759/cureus.47044>
3. *Dorothy A, Rajan KE* (2025) Prenatal maternal life adversity impacts on learning and memory in offspring: implication to transgenerational epigenetic inheritance. *Front Neurosci* 19: 1518046.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2025.1518046>
4. *Khan Z, Messiri NEI, Iqbal E, Hassan H, Tanweer MS, Sadia SR, Taj M, Zaidi U, Yusuf K, Syed NI, Zaidi M* (2025) On the role of epigenetic modifications of HPA axis in posttraumatic stress disorder and resilience. *J Neurophysiol* 133: 742–759.
<https://doi.org/10.1152/jn.00345.2024>
5. *Lopes NA, Ambeskovic M, King SE, Faraji J, Soltanpour N, Xu W, Fang X, Metz G, Olson DM* (2025) Transgenerational transmission of prenatal maternal stress across three generations of male progeny alters inflammatory stress markers in reproductive tissues. *Psychoneuroendocrinology* 177: 107451.
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2025.107451>
6. *Shi Q, Qi K* (2023) Developmental origins of health and disease: Impact of paternal nutrition and lifestyle. *Pediatr Investig* 7: 111–131.
<https://doi.org/10.1002/ped4.12367>
7. *Casciaro C, Hamada H, Bloise E, SG* (2025) The paternal contribution to shaping the health of future generations. *Trends Endocrinol Metab* 36: 459–471.
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2024.10.007>

8. *Tan X, Luo J, Ding X, Li H* (2023) Preconception paternal mental disorders and child health: Mechanisms and interventions. *Neurosci Biobehav Rev* 144: 104976.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104976>
9. *Yahyavi ST, Zarghami M, Naghshvar F, Danesh A* (2015) Relationship of cortisol, norepinephrine, and epinephrine levels with war-induced posttraumatic stress disorder in fathers and their offspring. *Rev Bras Psiquiatr* 37: 93–98.
<https://doi.org/10.1590/1516-4446-2014-1414>
10. *Yehuda R, Daskalakis NP, Lehrner A, Desarnaud F, Bader HN, Makotkine I, Flory JD, Bierer LM, Meaney MJ* (2014) Influences of maternal and paternal PTSD on epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor gene in Holocaust survivor offspring. *Am J Psychiatry* 171: 872–880.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2014.13121571>
11. *Mychasiuk R, Harker A, Ihnitskyy S, Gibb R* (2013) Paternal stress prior to conception alters DNA methylation and behaviour of developing rat offspring. *Neuroscience* 241: 100–105.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.03.025>
12. *Jyothi AK, Thotakura B, Priyadarshini SC, Patil S, Poojari MS, Subramanian M* (2022) Paternal stress alters synaptic density and expression of *GAP-43*, *GRIN1*, *M1* and *SYP* genes in the hippocampus and cortex of offspring of stress-induced male rats. *Morphologie* 107: 67–79.
<https://doi.org/10.1016/j.morpho.2022.05.001>
13. *Rodgers AB, Bale TL* (2015) Germ cell origins of Posttraumatic stress disorder risk: the transgenerational impact of parental stress experience. *Biol Psychiatry* 78: 307–314.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.03.018>
14. *Petropoulos S, Matthews SG, Szyf M* (2014) Adult glucocorticoid exposure leads to transcriptional and DNA methylation changes in nuclear steroid receptors in the hippocampus and kidney of mouse male offspring. *Biol Reproduct* 90: 1–10.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.115899>
15. *Ordyan NE, Malysheva OV, Akulova VK, Pivina SG, Kholova GI* (2020) The capability to learn and expression of the Insulin-like growth factor II gene in the brain of male rats whose fathers were subjected to stress factors in the “stress–restress” paradigm. *Neurochem J* 14: 191–196.
<https://doi.org/10.1134/S1819712420020075>
16. *Ordyan NE, Malysheva OV, Holova GI, Akulova VK, Pivina SG* (2022) Sex-dependent effects of stress in male rats on memory and expression of the Insulin-like growth factor 2 gene in the brains of offspring. *Neurosci Behav Physiol* 52: 242–250.
<https://doi.org/10.1007/s11055-021-01079-1>
17. *Ordyan NE, Pivina SG, Akulova VK, Kholova GI* (2021) Changes in the nature of behavior and the activity of the hypophyseal-adrenocortical system in the offspring of paternal rats subjected to stress in the stress–restress paradigm before mating. *Neurosci Behav Physiol* 51: 528–534.
<https://doi.org/10.1007/s11055-021-01100-7>
18. *Ордян НЭ, Пивина СГ, Холова ГИ, Аkulova ВК, Rakitskaya ВВ* (2022) Дифференциальное влияние ПТСР-подобного или депрессивно-подобного состояния самцов крыс перед спариванием на активность гипоталамо-гипофизарно-адренокортичальной системы половозрелых потомков. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 108: 1114–1124. [Ordyan NE, Pivina SG, Kholova GI, Akulova VK, Rakitskaya VV (2022) Differential influence of PTSD-like or depressive-like state of male rats before mating on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system of sexually mature offspring. *Russ J Physiol* 108: 1114–1124. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0869813922090114>
19. *Galeeva A, Pelto-Huikko M, Pivina S, Ordyan N* (2010) Postnatal ontogeny of the glucocorticoid receptor in the hippocampus. *Vitam and Hormon* 82: 367–389.
[https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(10\)82019-9](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(10)82019-9)
20. *Ordyan NE, Pivina SG, Baranova KA, Rakitskaya VV, Akulova VK, Kholova GI* (2021) Sex-dependent actions of prenatal stress on the activity of the hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system in rats: the role of corticosteroid receptors in the brain. *Neurosci Behav Physiol* 51: 357–366.
<https://doi.org/10.1007/s11055-021-01079-1>

21. *Pivina SG, Rakitskaya VV, Akulova VK, Shagalugova ED, Ordyan NE* (2022) Effects of prenatal stress on reproductive function in male rats. *Neurosci Behav Physiol* 52: 568–573.
<https://doi.org/10.1007/s11055-022-01276-6>
22. *Ordyan NE, Smolenskiy IV, Pivina SG, Akulova VK, Rakitskaya VV* (2014) Characteristics of the formation of the anxious-depressive state in an experimental model of Post-traumatic stress disorder in prenatally stressed male rats. *Neurosci Behav Physiol* 44: 657–663.
<https://doi.org/10.1007/s11055-014-9966-6>
23. *Pivina SG, Rakitskaya VV, Akulova VK, Ordyan NE* (2016) Activity of the hypothalamic–pituitary–adrenal system in prenatally stressed male rats on the experimental model of post-traumatic stress disorder. *Bull Exp Biol Med* 160: 601–604.
<https://www.doi.org/10.1007/s10517-016-3227-3>
24. *Ордян НЭ, Шигалугова ЕД, Малышева ОВ, Пивина СГ, Аkulova ВК, Холова ГИ* (2023) Трансгенерационное влияние пренатального стресса на память и экспрессию гена инсулиноподобного фактора роста 2 в мозге потомков. *Журн эвол биохим физиол* 59: 403–412. [*Ordyan NE, Shagalugova ED, Malysheva OV, Pivina SG, Akulova VK, Kholova GI* (2023) Transgenerational influence of prenatal stress on memory and expression of the insulin-like growth factor 2 gene in the brain of offspring. *J Evol Biochem Physiol* 59: 403–412. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0044452923050066>
25. *Danan D, Todder D, Zohar J, Cohen H* (2021) Is PTSD-phenotype associated with HPA-axis sensitivity? Feedback inhibition and other modulating factors of glucocorticoid signaling dynamics. *Int J Mol Sci* 22: 6050.
<https://doi.org/10.3390/ijms22116050>
26. *Sbisa A, Kristin Graham K, Lawrence-Wood E, McFarlane AC, Toben C* (2024) PTSD biomarkers: Neuroendocrine signaling to epigenetic variants. *Adv Clin Hem* 122: 209–260.
<https://doi.org/10.1016/bs.acc.2024.06.004>
27. *Engel S, Klusmann H, Laufer S, Kapp C, Schumacher S, Knaevelsrud C* (2022) Biological markers in clinical psychological research – A systematic framework applied to HPA axis regulation in PTSD. *Compr Psychoneuroendocrinol* 11: 100148.
<https://doi.org/10.1016/j.cpne.2022.100148>
28. *Dashorst P, Mooren TM, Kleber RJ, de Jong PJ, Huntjens RJC* (2019) Intergenerational consequences of the Holocaust on offspring mental health: a systematic review of associated factors and mechanisms. *Eur J Psychotraumatol* 10: 1654065.
<https://doi.org/10.1080/20008198.2019.1654065>
29. *Malysheva OV, Pivina SG, Ponomareva EN, Ordyan NE* (2023) Changes in content of small non-coding RNA in spermatozoa as a possible mechanism of transgenerational transmission of paternal stress effect: an experimental study. *Cell Tiss Biol* 17: 223–232.
<https://doi.org/10.1134/S19900519X23030070>
30. *Hamada H, Casciaro C, Moisiadis VG, Constantino A, Kostaki A, Matthews SG* (2024) Prenatal maternal glucocorticoid exposure modifies sperm miRNA profiles across multiple generations in the guinea-pig. *J Physiol* 602(9): 2127-2139.
<https://doi.org/10.1113/JP284942>
31. *Cottrell EC, Seckl JR.* (2009) Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of adult disease. *Front Behav Neurosci* 3: 19.
<https://doi.org/10.3389/neuro.08.019.2009>

Hormonal Profile of the Offspring of Prenatally Stressed Male Rats with Modeling of Post-traumatic Stress Disorder during Spermatogenesis

S. G. Pivina^a, V. K. Akulova^a, G. I. Kholova^a, and N. E. Ordyan^{a,*}

^aPavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

**e-mail: neo@infran.ru*

Currently, there is an increasing number of studies demonstrating the transgenerational effects of maternal and paternal stress on various functions of offspring. The effects of maternal (prenatal) stress can be transmitted to the next generations of the offspring through the male line. Various psychopathologies in men, such as posttraumatic stress disorder (PTSD), manifest themselves in their children as various disorders after birth. In this regard, the aim of the present study was to investigate the consequences of PTSD modeling (the “stress-restress” paradigm) in prenatally stressed (PS) male rats before mating with intact females on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis (HPA) and the blood content of sex hormones in the offspring of both sexes. The study was performed not only on the offspring of PS males and the offspring of PS males with PTSD modeling before conception, but also on similar groups of the offspring obtained from control males. It is shown that already on the 5th day of life, a change in the HPA axis activity is observed in the offspring of stressed males, mainly in the offspring of males. In sexually mature offspring, regardless of gender and the group of stressed fathers, a decrease in the basal and stress activity of the HPA axis and its accelerated inhibition after stress activation were found. A decrease in the testosterone level was found in the offspring of control and PS males with PTSD modeling, and a decrease in the estradiol level in females – the offspring of PS males with PTSD modeling. It is concluded that the effects of PTSD modeling in male rats during spermatogenesis on the HPA axis activity of their sexually mature offspring are similar and do not depend on the sex of the offspring or whether the males were stressed prenatally. A similar effect of the PTSD-like state of male fathers has on the testosterone level of their offspring, which can reduce their reproductive abilities in unfavorable environmental conditions.

Keywords: prenatal stress, paternal stress, PTSD, offspring, corticosterone, testosterone, estradiol, rat