

DOI: 10.1134/S0869813918110092

**ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА
НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ
И АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В МОЗГЕ
И ПЛАЗМЕ КРОВИ САМЦОВ КРЫС
В МОДЕЛИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО
РАССТРОЙСТВА**

© И. В. Смоленский,¹ А. В. Притворова,² Н. Э. Ордян²

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия
E-mail: smolensky.ilya@gmail.com

² Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Исследование посвящено влиянию пренатального стресса на биохимические особенности протекания посттравматического стрессового расстройства в модели «стресс-рестресс» у самцов крыс. Так как стрессорные факторы активируют ГГАС, проникновение стрессорных гормонов в организм плода может приводить к нарушению работы его собственной ГГАС и увеличивать предрасположенность к тревожно-депрессивным заболеваниям, в том числе посттравматическому стрессовому расстройству. В наших предыдущих работах было показано, что на фоне пренатального стресса в модели ПТСР формируется более длительное тревожно-депрессивное состояние с более тяжелыми нарушениями работы ГГАС.

В данной работе оценивались окислительные модификации белков и активность супероксиддисмутазы в гипоталамусе, гиппокампе, неокортексе и плазме крови взрослых самцов крыс через 1, 10 и 20 суток после моделирования ПТСР на фоне пренатального стресса. ПС моделировался 60-минутной иммобилизацией самок крыс в 15—19-й дни беременности, ПТСР — в парадигме «стресс-рестресс», состоящей из двухчасовой иммобилизации, 20-минутного вынужденного плавания, эфирного наркоза, через 7 суток 30-минутной иммобилизации. Уровень ОМБ оценивался спектрофотометрически по количеству продуктов спонтанных и индуцированных реактивом Фентона модификаций. У ПС крыс без моделирования ПТСР обнаружено усиление СОМБ и ФОМБ в гипоталамусе — ключевой структуре стрессорного ответа, и разнонаправленные изменения активности СОД в неокортексе и плазме. В ходе моделирования ПТСР у ПС крыс процессы ОМБ начинаются уже в 1-й день, но обнаруживаются только в гиппокампе, тогда как у крыс без ПС наблюдаются во всех структурах, но только с 10-го дня.

Ключевые слова: пренатальный стресс, посттравматическое стрессовое расстройство, окислительные модификации белков, супероксиддисмутаза, гипоталамус, гиппокамп, неокортекс.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 11. С. 1356—1367. 2018

I. V. Smolensky,¹ A. V. Pritvorova,² N. E. Ordyan.² PRENATAL STRESS CHANGED PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATIONS AND SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IN BRAINS OF MALE RATS AND PLASMA DURING POSTTRAUMATIC STRESS DISORDER MODELLING. ¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, Russia, e-mail: smolensky.ilya@gmail.com; ² Pavlov Institute of Physiology of the RAS, St. Petersburg, Russia.

Biochemical changes during development of posttraumatic stress disorder (PTSD) after prenatal stress were investigated in prenatally stressed male rats. Stress factors activate hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis thus increasing penetration of stress hormones into the fetus. It can disturb fetal HPA axis and lead to increased risk of stress-related disorders like PTSD. Our previous works showed that prenatally stressed male rats have longer anxious-depressive state in PTSD «stress-restress» model with more severe neuroendocrine disturbances.

In this work, oxidative modifications of proteins and superoxide dismutase activity were estimated in the hypothalamus, hippocampus and neocortex of male rats 1, 10 and 20 days after PTSD with and without prenatal stress. Prenatal stress was modeled by 60-min immobilization of females in days 15—19 of pregnancy, and PTSD was modeled with «stress-restress» model consisted of 2-h immobilization, 20-min forced swimming and ether anesthesia with rest in 7 days as 30-min immobilization. Oxidative modification of proteins was measured by amount of products of spontaneous and induced by Fenton's reactive modifications. Prenatally stressed rats without PTSD had increased spontaneous and induced modifications in the hypothalamus — key structure for stress response, and bi-directional changes in superoxide dismutase in neocortex and blood. In prenatally stressed rats, protein oxidation started next day after PTSD induction, but it was found only in the hippocampus. In rats without prenatal stress, protein oxidation started later and was found in all investigated brain structures 10 days after PTSD.

Key words: prenatal stress, posttraumatic stress disorder, oxidative modification of proteins, superoxide dismutase, hypothalamus, hippocampus, neocortex.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 11. P. 1356—1367. 2018

Стрессорные факторы различной природы (физические и психологические) приводят к запуску стрессорной системы организма, в первую очередь включающей активацию гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС). Патологическая активация системы стрессорного ответа может приводить к развитию разнообразных постстрессовых расстройств как психических (прежде всего тревожно-депрессивных), так и вегетативных. Глюкокортикоидные гормоны (кортизол у человека, кортикостерон у грызунов) — конечное эффекторное звено стрессорного ответа — проникают через плаценту в организм плода [1], где связываются с кортикостероидными рецепторами, экспрессирующимися у крыс в последнюю неделю гестации [2]. На поздних сроках (E15-21) плод отвечает на материнский стресс выбросом CRH и β -эндорфина из гипоталамуса и повышением концентрации АКТГ и кортикостерона в плазме крови [3]. Нарушение работы ГГАС у пренатально стрессированных потомков приводит к увеличению чувствительности к постнатальным стрессорным воздействиям и предрасположенности к постстрессовым тревожно-депрессивным расстройствам [4]. В наших предыдущих исследованиях показано, что пренатально стрессированные (ПС) самцы крыс отличаются более длительным сохранением признаков патологического состояния в модели посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) — увеличением уровня тревожности, включением быстрой отрицательной обратной связи в ГГАС (отличительной клинической черты ПТСР), и снижением базального уровня кортикостерона [5]. Также показано снижение содержания кортиколиберина и вазопрессина (ключевых медиаторов стрессорного ответа) в мелко- и крупноклеточных нейронах паравентрикулярного ядра гипоталамуса в ходе моделирования ПТСР при, напротив, увеличении их содержания у самцов, рожденных интактными самками [6].

Одним из многочисленных эффектов действия стрессорных факторов на организм является нарушение окислительно-восстановительного баланса в клетках и нарушение работы антиоксидантной системы. Интенсивный окислительный обмен нейронов, с одной стороны, и низкая активность антиоксидантной системы — с другой, делают нейрональные структуры наиболее восприимчивыми к разрушительному действию активных форм кислорода [7]. Так как пренатальные стрессорные воздействия опосредуются медиаторами стресса, проникающими из организма матери в организм плода, клетки различных систем потомков, в первую очередь нейроны, также подвержены процессам свободнорадикального окисления [8]. В данной работе оценивается влияние пренатального стресса на биохимические особенности формирования постстрессовой патологии в модели посттравматического стрессового расстройства «стресс-рестресс». Оценивали уровень спонтанных и индуцированных окислительных модификаций белков (ОМБ) в гипоталамусе, гиппокампе, неокортексе и плазме крови самцов крыс 4 групп: рожденных интактными самками (контроль), рожденных стрессированными в последнюю треть беременности самками крыс (пренатальный стресс, ПС), рожденных интактными самками с постнатальным моделированием посттравматического стрессового расстройства (контроль-ПТСР), пренатально стрессированными с постнатальным моделированием ПТСР (ПС-ПТСР). Совместное воздействие пренатального стресса и постнатального моделирования ПТСР позволит более глубоко понять молекулярные процессы, как сопровождающие патогенез ПТСР, так и вовлеченные в патологические последствия пренатального стресса.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Моделирование пренатального стресса. В работе использовались половозрелые крысы линии Вистар, выращенные в виварии Института физиологии им. 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 часовой иммобилизации в течение 60 мин в пластиковых пеналах размером $20 \times 7 \times 6$ см с 15-го по 19-й дни беременности (нулевым днем считался день обнаружения сперматозоидов во влагалище). За 1—2 дня до родов беременных самок рассаживали в индивидуальные клетки. После рождения крысята находились с матерью 30 дней без ограничения доступа к воде и пище. Далее крысят рассаживали в клетки по 5—7 особей в каждой. Контрольные крысы были рождены интактными самками. В экспериментах использовали только потомков мужского пола, достигших возраста 90 дней, массой 300—350 г.

Моделирование посттравматического стрессового расстройства (ПТСР). Как в группе контрольных, так и в группе пренатально стрессированных (ПС) крыс животные были разделены еще на две группы — одни подверглись тяжелому стрессу для моделирования ПТСР человека, другие не подвергались действию стресса. Крысы без ПТСР внутри обеих групп (контроль и ПС) являлись контролем к группе крыс, подвергшихся стрессу. Каждая из 4 образованных групп («контроль без ПТСР», «контроль-ПТСР», «ПС без ПТСР», «ПС-ПТСР») включала 6 крыс. Для индукции экспериментального аналога посттравматического стрессового расстройства использовали модель «стресс-рестресс» [9]. Крыс подвергали тяжелому комбинированному стрессу, состоящему из двухчасовой иммобилизации, 20-минутного вынуж-

денного плавания и после 15-минутного перерыва — эфирного стресса до потери сознания. Для иммобилизации животных помещали в цилиндрические пластиковые пеналы длиной 20 и диаметром 6 см. Затем животных по одному переносили в стеклянные цилиндры высотой 70 и диаметром 30 см, до уровня 40 см заполненные водой с $T = 24$ °С. Через 20 мин животных доставали из воды и на 15 мин сажали в клетки, стоящие напротив тепловентилятора, для высыхания. После эфирного стресса животных помещали обратно в свои клетки. Триггером для развития реактивного тревожно-депрессивного состояния являлся рестресс, заключающийся в 30-минутной иммобилизации через 7 дней после первого комбинированного стресса. Между первым и вторым стрессом животные содержались в стандартных условиях при свободном доступе к воде и пище. 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.

Оценка уровня окислительного стресса. Через 1, 10 и 20 суток после рестресса (разные эксперименты) животных всех 4 групп декапитировали, после чего из головного мозга крыс на холоде извлекали гипоталамус, гиппокамп и неокортекс, а также забирали кровь. Окислительную модификацию белков оценивали в двух формах — спонтанную (СОМБ), характеризующую базальный уровень окислительного стресса, и индуцированную реактивом Фентона (ФОМБ) как показатель количества субстрата для окисления и, таким образом, устойчивости системы к переокислению. Уровень окислительной модификации белков (ОМБ) оценивали по методике [10]. Концентрацию продуктов ОМБ — карбонильные производные белков, образовавшиеся на стадии инициации процесса, регистрировали при длине волны 270 нм (окисление полярных аминокислот), а на стадии элонгации — при 363 нм (окисление неполярных аминокислот). Количество продуктов ОМБ выражали в относительных единицах оптической плотности, рассчитанных на 1 мг белка (Е/мг белка). Для оценки стимулированной ОМБ (ФОМБ) использовали величину приращения ОМБ, вычитая из значений, полученных в пробе после индукции реактивом Фентона, значения спонтанной ОМБ. Измерения проводили на спектрофотометре СФ 26.

Биохимический анализ активности антиоксидантной системы. Активность супероксиддисмутазы определяли по методу Чевари [11] с дополнениями [12]. Результаты выражали в условных единицах в расчете на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури. Количество SH-групп определяли по методу Соколовского [13]. Образование продуктов взаимодействия тиолов с реактивом Элмана оценивали спектрофотометрически (длина волны 412 нм).

Статистическая обработка. Так как группы «без ПТСР 1 день», «без ПТСР 10 дней» и «без ПТСР 20 дней» не различались ни по одному из исследуемых параметров, они были объединены в группу «без ПТСР». Статистическая обработка результатов проводилась в программе Statistica (Statsoft, США). Выборки сравнивали непараметрическим критерием Манна—Уитни, различия считали достоверными при $p < 0.05$. На гистограммах данные представлены в виде среднее \pm ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Окислительные модификации белков

Различия по уровню окислительных модификаций белков между контрольными и ПС крысами обнаружены в гипоталамусе и гиппокампе — в обеих структурах у ПС крыс в 1.5 раза повышен уровень индуцированных ОМБ [ФОМБ-363 в гипоталамусе ($F_{3,64} = 5.3$, $p < 0.001$), критерий Тьюки $p < 0.01$; рис. 1, *Б*; ФОМБ-363 в гиппокампе ($F_{3,62} = 3.1$, $p < 0.05$), критерий Тьюки $p < 0.01$; рис. 2, *Б*], что свидетельствует о включении адаптивных механизмов защиты, усиливающих устойчивость к действию окислительного стресса. При этом в гипоталамусе ПС крыс повышен также и уровень спонтанных ОМБ [СОМБ-363 ($F_{3,63} = 9.2$, $p < 0.001$), критерий Тьюки $p < 0.01$; рис. 1, *А*].

Гипоталамус. Уровень СОМБ увеличивается только у контрольных животных на 10-й день после рестресса [СОМБ-363 ($F_{3,63} = 9.2$, $p < 0.001$), критерий Тьюки $p < 0.001$; рис. 1, *А*]. Однако снижение ФОМБ через те же самые 10 суток обнаружено как у контрольных [ФОМБ-270 ($F_{3,63} = 4.5$, $p < 0.01$), критерий Тьюки $p < 0.01$; рис. 1, *Б*], так и у пренатально стрессированных крыс [ФОМБ-363 ($F_{3,64} = 5.3$, $p < 0.001$), критерий Тьюки $p < 0.001$; рис. 1, *Б*], причем у последних ему предшествует, наоборот, усиление уровня ФОМБ

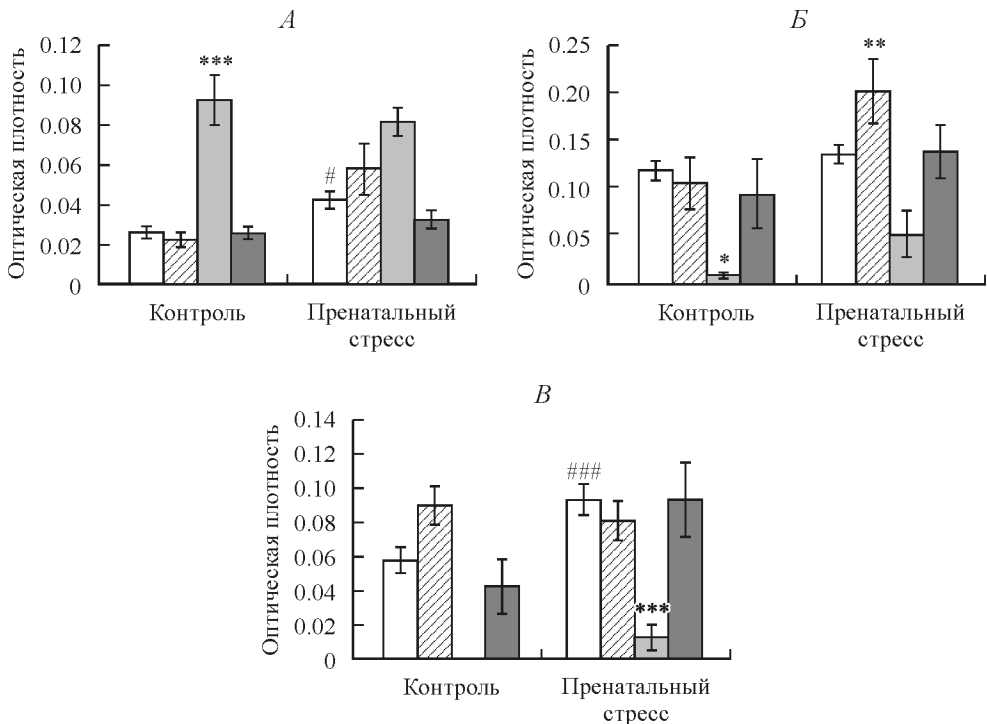


Рис. 1. Спонтанные (*А* — длина волны 363 нм) и индуцированные реактивом Фентона (*Б* — длина волны 270 нм, *В* — длина волны 363 нм) окислительные модификации белков в гипоталамусе.

Столбики: светлые — «без ПТСР», заштрихованные — «ПТСР 1 день», серые — «ПТСР 10 дней», темные — «ПТСР 20 дней». # — Различия между контрольными и ПС крысами, $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$, * отличия от группы «без ПТСР», $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, критерий Тьюки (двухфакторный дисперсионный анализ).

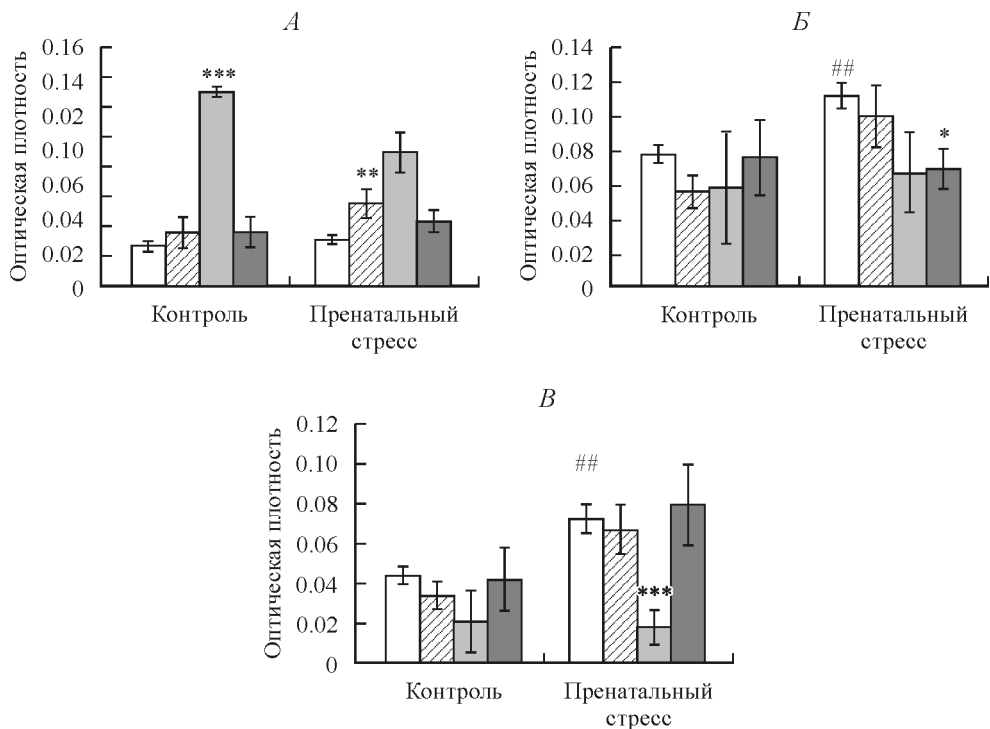


Рис. 2. Спонтанные (*A* — длина волны 270 нм) и индуцированные реактивом Фентона (*B* — длина волны 270 нм, *B* — длина волны 363 нм) окислительные модификации белков (ОМБ) в гиппокампе.

Обозначения такие же, как на рис. 1.

через 1 день после рестресса (ФОМБ-270, критерий Тьюки $p < 0.001$; рис. 1, *B*).

Гиппокамп. В гиппокампе усиление СОМБ наблюдается не только у контрольных, но и у ПС крыс, при этом у контрольных оно обнаружено только на 10-й день после рестресса [СОМБ-270 ($F_{3,62} = 22, p < 0.001$); рис. 2, *A*], в то время как у ПС уровень СОМБ повышен как на 1-й, так и на 10-й день (СОМБ-270). При этом только у ПС крыс с исходно повышенным уровнем ФОМБ наблюдается его падение в ходе формирования расстройства — у ПС крыс он снижен как на 10-й [ФОМБ-363 ($F_{3,62} = 3.1, p < 0.05$); рис. 2, *B*], так и на 20-й день [ФОМБ-270 ($F_{3,62} = 4, p < 0.05$); рис. 2, *B*].

Неокортекс. В неокортексе уровень СОМБ повышается только у контрольных крыс лишь на 10-й день после моделирования ПТСР [СОМБ-270 ($F_{3,64} = 5.8, p < 0.01$); рис. 3, *A*]. Изменения ФОМБ сопровождают моделирование ПТСР лишь у ПС крыс, при этом их динамика нелинейна — вслед за увеличением на следующий день после рестресса уровень падает ниже исходного к 10-му дню [ФОМБ-270 ($F_{3,63} = 5, p < 0.01$); рис. 3, *B*]. Возможно, мобилизация защиты белков от окисления (оцениваемая по уровню ФОМБ), активирующаяся спустя сутки после моделирования ПТСР, защищает белки гиппокампа и неокортекса от столь сильных окислительных модификаций спустя 10 суток, как у крыс контрольной группы.

Плазма крови. В плазме крови уровень СОМБ повышен у контрольных и ПС крыс только через 10 дней после моделирования ПТСР [СОМБ-270

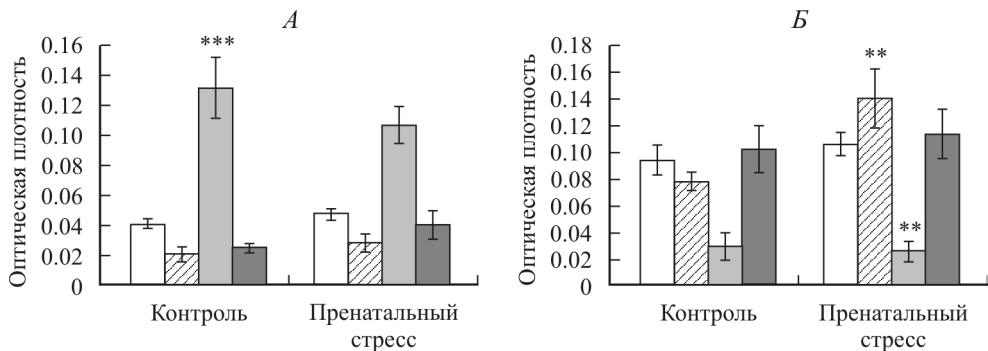


Рис. 3. Спонтанные (*A* — длина волны 270 нм) и индуцированные реактивом Фентона (*B* — длина волны 270 нм) окислительные модификации белков в неокортексе.

Обозначения такие же, как на рис. 1.

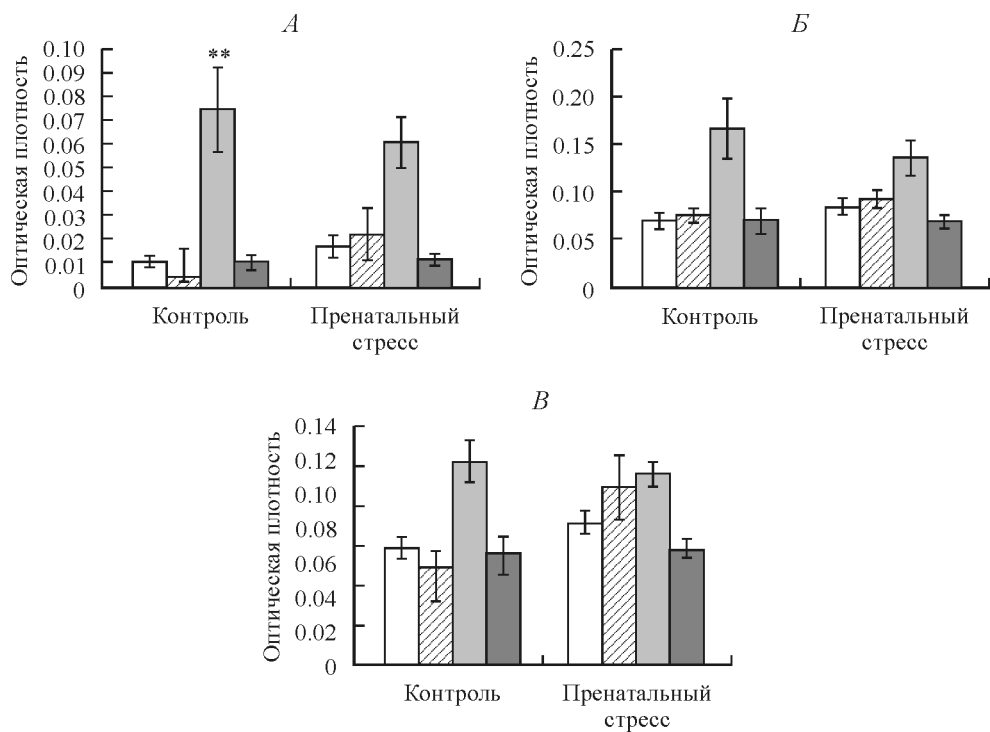


Рис. 4. Спонтанные (*A* — длина волны 270 нм) и индуцированные реактивом Фентона (*B* — длина волны 270 нм, *B* — длина волны 363 нм) окислительные модификации белков в плазме крови.

Обозначения такие же, как на рис. 1.

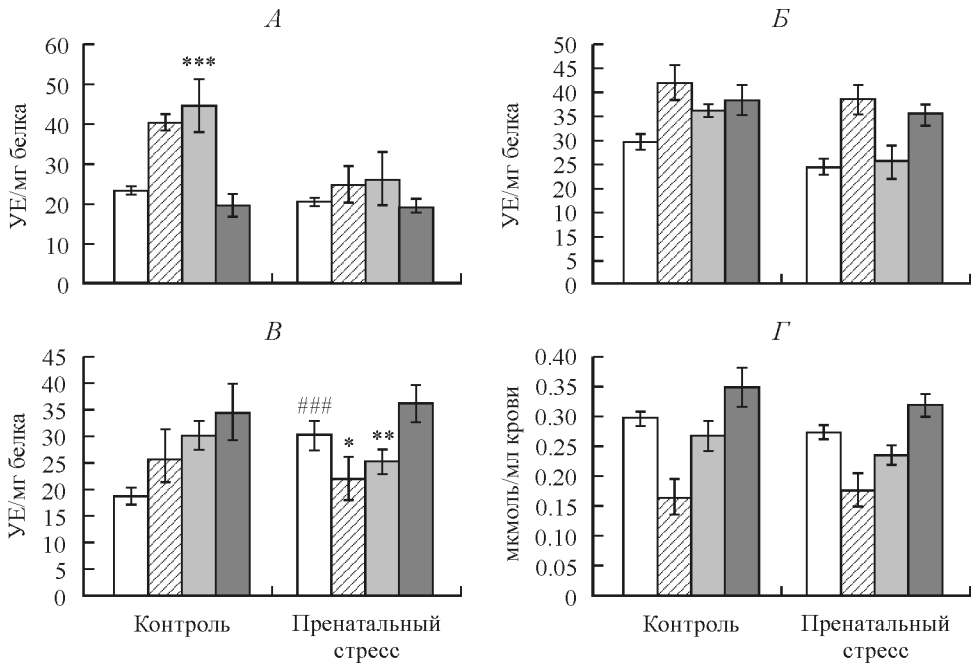


Рис. 5. Активность антиоксидантной системы в гиппокампе (А), неокортексе (Б) и плазме крови (В, Г).

А — активность СОД в гиппокампе, Б — активность СОД в неокортексе, В — активность СОД в плазме крови, Г — концентрация SH-групп в плазме крови. УЕ — условные единицы активности фермента. Обозначения такие же, как на рис. 1.

($F_{3,64} = 2.9, p < 0.05$); рис. 4, А]. При этом повышение уровня ФОМБ у контроля наблюдается параллельно с увеличением уровня СОМБ лишь на 10-й день [ФОМБ-270 ($F_{3,64} = 3.4, p < 0.05$); рис. 4, Б], тогда как у ПС крыс уже на следующий день после рестресса [ФОМБ-363 ($F_{3,63} = 7, p < 0.001$); рис. 4, В]. Таким образом, при сходной динамике усиления окислительного стресса в плазме крови включение защитных механизмов устойчивости системы к перекислению происходит у ПС крыс быстрее, чем у контрольных.

2. Антиоксидантная система

Контрольные и ПС крысы различались по уровню активности Cu,Zn-СОД только в плазме крови (СОДЗ) — пренатальный стресс приводил к увеличению фермента ($F_{3,64} = 9.8, p < 0.001$; рис. 5, В).

Усиление активности СОД1 у контрольных крыс было обнаружено только в гиппокампе ($F_{3,63} = 21.9, p < 0.001$; рис. 5, А) через 1 и 10 дней после моделирования ПТСР. У ПС крыс в свою очередь активность СОДЗ в плазме крови ($F_{3,64} = 9.8, p < 0.001$), будучи повышенной относительно контроля, снижалась через 1 и через 10 дней после моделирования ПТСР (рис. 5, В). По активности СОД1 в неокортексе (рис. 5, Б) и концентрации тиоловых групп в плазме крови (рис. 5, Г) различий между группами не обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Так как многие биохимические нарушения при стрессе, в том числе процессы окислительного стресса и угнетение активности антиоксидантной системы организма, опосредуются различными стресс-индуцируемыми гормонами, прежде всего гормонами ГГАС, то их проникновение в организм плода в результате пренатального стресса может вызывать схожие биохимические процессы в клетках. Высокий уровень окислительно-восстановительного метаболизма, с одной стороны, и низкая активность антиоксидантной системы — с другой, делают головной мозг наиболее чувствительной структурой к действию окислительного стресса. Прямое действие глюкокортикоидов на ионотропные NMDA-рецепторы глутамата и активация глутаматных транспортеров EAAT из-за возрастающего входа глюкозы усиливают эксайтотоксический вход ионов кальция в клетку, что может нарушать энергетический метаболизм митохондрий и окислительно-восстановительный баланс клетки [14]. В связи с этим процессы окислительного стресса могут играть важную роль в патогенезе стресс-индуцированных тревожно-депрессивных расстройств, в том числе ПТСР.

Именно в гипоталамусе — центральном звене системы стрессорного ответа, наиболее сильно вовлеченной в патогенез постстрессорных тревожно-депрессивных расстройств, обнаружено усиление окислительных модификаций белков после пренатального стресса. При этом в работе Z. Zhu и соавт. [8] говорится, что наиболее предрасположенной к ОМБ в результате пренатального стресса структурой мозга является не гипоталамус, а гиппокамп из-за большого количества кортикостероидных рецепторов. Хотя по уровню СОМБ в гиппокампе контрольные и ПС крысы не различались, в этой области мозга, так же как и в гипоталамусе, была повышена интенсивность ФОМБ — показатель устойчивости и запаса прочности клеток к действию окислителей. Изменял пренатальный стресс и работу антиоксидантной системы, однако если в неокортексе у ПС крыс наблюдалось снижение активности супероксиддисмутазы, то в плазме крови, напротив, ее активность была повышена. В нашей лаборатории до этого уже проводились исследования влияния пренатального стресса на окислительные процессы в структурах головного мозга. В работе А. В. Вьюшиной и соавт. [15] наиболее значительное увеличение уровня СОМБ также обнаружено в гипоталамусе (в 3 раза), однако уровень ФОМБ был, напротив, снижен в гипоталамусе и стриатуме. Это говорит, с одной стороны, об усилении окислительных процессов в данном отделе, с другой — о слабости защитных механизмов. Таким образом, наиболее сильный окислительный стресс обнаруживается именно в том отделе головного мозга, который в наибольшей степени участвует в запуске стрессорного ответа и управляет гормональным компонентом стрессорной реакции — гипоталамусе. Также в этой работе сообщается о противоположных изменениях ОМБ в гиппокампе — уровень СОМБ там снижается, а уровень ФОМБ (так же как и в данном исследовании) увеличивается, что может свидетельствовать об ослаблении окислительных процессов в данном отделе по сравнению с контролем. Отличались ПС крысы и по уровню активности антиоксидантной системы, причем в разных отделах мозга эти изменения носили разнонаправленный характер. Если в неокортексе пренатальный стресс подавлял активность ключевого фермента антиоксидантной системы — супероксиддисмутазы, то в плазме крови, напротив, ее активность была повышена. В упомянутом исследовании А. В. Вьюшиной и соавт. [15] оценивалась актив-

Изменение уровня окислительных модифицированных белков
и активности антиоксидантной системы при моделировании ПТСР

Структура	Контроль, дни			Пренатальный стресс, дни		
	1	10	20	1	10	20
Гипоталамус	Нет различий	↑ СОМБ ↓ ФОМБ	Нет различий	↑ ФОМБ	↓ ФОМБ	Нет различий
Гиппокамп	↑ СОД	↑ СОМБ ↑ СОД		↑ СОМБ	↑ СОМБ ↓ ФОМБ	↓ ФОМБ
Неокортекс	Нет различий	↑ СОМБ		↑ ФОМБ	↓ ФОМБ	
Плазма крови		↑ СОМБ ↑ ФОМБ ↓ SH		↑ ФОМБ ↓ СОД	↑ СОМБ ↓ СОД	Нет различий

ность СОД только в плазме крови, и она оказалась сниженной (на 65 %) у ПС крыс по сравнению с контрольными, так же как и уровень тиоловых групп (на 80 %). Различия в результатах могут быть связаны с использованием разных линий крыс (Спрейг—Доули, а не Вистар) и сроков пренатального стресса (17—20-й дни беременности в работе А. В. Вьюшиной и соавт., 15—19-й дни в данной работе).

Также контрольные и ПС самцы крыс отличаются по динамике уровня окислительных модификаций белков — спонтанной (показатель уровня окислительного стресса) и индуцированной реактивом Фентона (показатель устойчивости системы к переоксислению), а также активности антиоксидантной системы в плазме крови и структурах головного мозга, в ходе развития постстрессового состояния в модели ПТСР. Из таблицы видно, что у контрольных крыс биохимические проявления постстрессовой патологии в модели ПТСР начинают проявляться лишь через 10 суток после рестресса. В гипоталамусе увеличение уровня окислительного стресса (СОМБ) сопровождается снижением уровня устойчивости к окислительному стрессу (ФОМБ). В гиппокампе же у контрольных крыс вместе с усилением уровня СОМБ растет активность ключевого фермента антиоксидантной системы супероксиддисмутазы, причем ее увеличение заметно уже на следующий день — до существенного усиления уровня окислительного стресса. В то же время у ПС крыс в первые сутки усиливается уровень окислительного стресса в гиппокампе, наиболее предрасположенном к окислительному стрессу [8]. При этом в других структурах возрастает уровень ФОМБ, что может показывать 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 дней, напротив, снижается относительно исходного уровня, что может говорить об истощении защитных механизмов клеток. Кроме гиппокампа увеличение СОМБ обнаруживается в плазме крови, где помимо этого также снижается активность СОД3. Хотя нарушения функционирования ГГАС после моделирования ПТСР сохраняются у ПС и в меньшей степени у контрольных крыс и через 30 суток после рестресса, биохимические проявления постстрессовой патологии не обнаруживаются даже через 20 дней после рестресса.

В ряде исследований [16, 17] оценивался уровень окислительного стресса и активности антиоксидантной системы у пациентов с ПТСР, однако отличий от контрольной группы (в одном случае — пострадавшие от землетрясения без ПТСР) не обнаружено. Однако в одном экспериментальном исследовании с использованием той же модели «стресс-рестресс» [18], что и в нашей работе, 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 пребывания в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта (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.

У крыс, перенесших пренатальный стресс, обнаружено усиление как спонтанной, так и индуцированной окислительной модификации белков в гипоталамусе — центральном звене ГГАС, ответственном за запуск стрессорной реакции. Также ПС крыс отличались усилением активности СОД в плазме крови. В ходе моделирования ПТСР уровень окислительного стресса у контрольных крыс возрастает во всех исследованных структурах, но лишь через 10 дней после рестресса. У ПС крыс уровень окислительного стресса возрастает уже на следующий день, однако обнаруживается только в гиппокампе. В гипоталамусе и неокортексе изменяется только уровень ФОМБ — возрастая на следующий день, он снижается на 10-й день, что может говорить об истощении защитных механизмов клеток. Таким образом, у пренатально стрессированных самцов крыс биохимические признаки патологического тревожно-депрессивного состояния в модели ПТСР «стресс-рестресс» проявляются быстрее, чем у крыс, рожденных интактными самками. Это может свидетельствовать об ослаблении у них защитных механизмов адаптации к действию стрессорных факторов и работы антиоксидантной системы в условиях постнатального стресса. Для более полного понимания биохимических процессов, сопровождающих действие пренатального стресса, патогенез ПТСР и их совместное действие, необходимы дальнейшие биохимические исследования — оценка уровня перекисного окисления липидов и активности других антиоксидантных ферментов — каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Zarrow M. X., Philpott J. E., Denenberg V. H. Passage of 14C-4-corticosterone from the rat mother to the foetus and neonate. *Nature*. 226(5250): 1058—1059. 1970.
- [2] Cintra A., Solfrini V., Bunnemann B., Okret S., Bortolotti F., Gustafsson J. A. Prenatal development of glucocorticoid receptor gene expression and immunoreactivity in the rat brain and pituitary gland: a combined in situ hybridization and immunocytochemical analysis. *Neuroendocrinology*. 57(6): 1133—1147. 1993.

[3] *Ohkawa T., Rohde W., Götz F., Tönjes R., Stahl F., Arai K.* The effect of an acute maternal stress on β -endorphin and growth hormone releasing factor in the rat fetus. *Exp. Clin. Endocr. Diabetes.* 91(01): 35—42. 1988.

[4] *Davis E. P., Sandman C. A.* Prenatal psychobiological predictors of anxiety risk in preadolescent children. *Psychoneuroendocrinology.* 37(8): 1224—1233. 2012.

[5] *Ordyan N. E., Smolenskii I. V., Pivina S. G., Akulova V. K.* Characteristics of the formation of the anxious-depressive state in an experimental model of posttraumatic stress disorder in prenatally stressed male rats. *Neurosci. Behav. Physiol.* 44(6): 657—663. 2014.

[6] *Pivina S. G., Rakitskaya V. V., Smolenskii I. V., Akulova V. K., Ordyan N. E.* Modification of expression of neurohormones in hypothalamus of prenatally stressed male rats in model of posttraumatic stress disorder. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 50(4): 345—352. 2014.

[7] *Farooqui A. A., Ong W.-Y., Horrocks L. A.* Biochemical aspects of neurodegeneration in human brain: involvement of neural membrane phospholipids and phospholipases A 2. *Neurochem. Res.* 29(11): 1961—1977. 2004.

[8] *Zhu Z., Li X., Chen W., Zhao Y., Li H., Qing C.* Prenatal stress causes gender-dependent neuronal loss and oxidative stress in rat hippocampus. *J. Neurosci. Res.* 78(6): 837—844. 2004.

[9] *Liberzon I., Krstov M., Young E. A.* Stress-restress: Effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology.* 22(6): 443—453. 1997.

[10] *Палей М. Н., Вьюшина А. В., Прутворова А. В., Ордян Н. Э., Евсюкова Е. В.* Окислительная модификация белков — ранний критерий развития хронической обструктивной болезни легких. *Вестн. Санкт-Петербургского университета.* 11(2): 164—170. 2014. [*Paley M. N., Vyushina A. V., Pritvorova A. V., Ordyan N. E., Evsyukova E. V.* Oxidative protein modification — early criterion of obstructive lung disease development. *Vestnik St. Petersburg. Univ.* 11(2): 164—170. 2014. (In Russ.)].

[11] *Чевару С., Чабан И., Секей И.* Роль СОД в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. *Лаб. дело.* 11: 678—681. 1985. [*Chevari S., Chaba I., Sekey I.* Role of SOD in cell oxidative processes and method of its determination in biological materials. *Lab. Delo.* 11: 678—681. 1985 (In Russ.)].

[12] *Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н.* Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. СПб. Фолиант. 2000. [*Arutyunyan A. V., Dubinina E. E., Zybinina N. N.* Methods to study free radical oxidation and antioxidant system in the organism. *St. Petersburg.* 2000. (In Russ.)].

[13] *Соколовский В. В., Кузьмина, В. С., Москадынова Г. А., Петрова Н. Н.* Спектрофотометрическое определение тиолов в сыворотке крови. *Клин. лабор. диагностика.* 1997. 11. 20—21. 1997. [*Sokolovsky V. V., Kuzmina V. S., Moskadynova G. A., Petrova N. N.* Spectrophotometry of thiols in the blood serum. *Klin. Lab. Diagn.* 17—19. 1997. (In Russ.)].

[14] *McIntosh L. J., Sapolsky R. M.* Glucocorticoids may enhance oxygen radical-mediated neurotoxicity. *Neurotoxicology.* 17(3—4): 873—882. 1995.

[15] *Вьюшина А. В., Прутворова А. В., Флеров М. А.* Окислительная модификация белков в структурах мозга крыс линии Спрейг—Доули и некоторые показатели поведения после пренатального стресса. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 98(8): 962—969. 2012. [*Vyushina A. V., Pritvorova A. V., Flyorov M. A.* Oxidative modification of proteins in brain structures of Sprague—Dowley rats and some features of behavior after prenatal stress. *Ros. Physiol. J.* 98(8): 962—969. 2012. (In Russ.)].

[16] *Ozdemir P. G., Kaplan I., Uysal C., Bulut M., Atli A., Bez Y.* Serum total oxidant and antioxidant status in earthquake survivors with post-traumatic stress disorder. *Acta Neuropsychiatrica* 27(3): 153—158. 2015.

[17] *Tezcan E., Atmaca M., Kuloglu M., Ustundag B.* Free radicals in patients with post-traumatic stress disorder. *Eur. Arch. Psychiatr. Clin. Neurosci.* 253(2): 89—91. 2003.

[18] *Garabadu D., Ahmad A., Krishnamurthy S.* Risperidone attenuates modified stress-restress paradigm-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis in rats exhibiting post-traumatic stress disorder-like symptoms. *J. Mol. Neurosci.* 56(2): 299—312. 2015.

Поступила 19.07.2018
После доработки 18.10.2018
Принята к публикации 19.11.2018