

УДК 612.453.018

**Сдвиги уровня пролактина в крови беременных крыс, подвергнутых хроническому стрессу, и у их потомства****М.Ю.Сароян<sup>1</sup>, А.Д. Худавердян<sup>2</sup>***ЕГМУ им. М. Гераци,<sup>1</sup> кафедра физиологии,  
<sup>2</sup>кафедра акушерства и гинекологии N 2  
0025, Ереван, ул. Корюна, 2**Ключевые слова:* пренатальный стресс, пролактин, крысы

Проблема влияния стресса на организм беременных, развивающегося плода и потомства широко обсуждается в литературе. Современные данные свидетельствуют о существенных нарушениях различных физиологических функций, взаимодействия между иммунной, гормональной и медиаторной системами у детей, перенесших пренатальный стресс [2, 3]. Известно, что эндокринные оси представляют собой последние звенья реакции на стрессоры. Они включаются при сильных раздражителях или при действии пролонгированного хронического стресса и характеризуются, в первую очередь, увеличенным выбросом глюкокортикоидов и катехоламинов – главных стресс-гормонов, которые способствуют мобилизации функций органов, их энергообеспечению и адаптации организма к создавшимся условиям. В обеспечении и поддержании эффектов главных стресс-гормонов принимают участие и другие гормоны – соматотропный гормон (СТГ), тиреоидные гормоны, пролактин, ренин-ангиотензин-альдостероновая система, вазопрессин и др. Причем роль каждого из указанных гормонов в стресс-реакции различна. Так, показано, что один из стресс-гормонов – пролактин повышает устойчивость к эмоциональному стрессу [4, 10]. Однократное внутрибрюшинное введение пролактина значительно ослабляло такие стрессорные реакции, как снижение массы тимуса, гипертрофию надпочечников, увеличивало выживаемость животных, полностью исключало возникновение желудочных язв. Он вызывает повышенную секрецию глюкокортикоидов [13, 16], повышает болевой порог [21], индуцирует защитное поведение и обеспечивает защиту от стрессиндуцированной гипертермии [11]. Эти исследования показали, что стрессиндуцированный выброс пролактина — не просто побочный эффект адренергической активации ЦНС, но и фактор сглаживания гомеостатических нарушений, играющий роль в поведенческой адаптации к неблагоприятным условиям окружающей среды. Вместе с тем в литературе мы

не обнаружили исследований по изучению динамических изменений уровня пролактина в крови беременных животных, подвергнутых действию хронического стресса.

Вышеперечисленное явилось основой для исследования уровня пролактина у беременных крыс, подвергнутых хроническому стрессу в течение всего периода беременности, а также у их потомства в ранний (неонатальный) период (4-5-й день) после рождения.

### **Материал и методы**

Исследования проведены на 30 беспородных белых беременных крысах, которые были разделены на 2 группы: по 15 крыс, с нормально протекающей беременностью (контроль) и подвергнутых действию хронического стресса на протяжении всего периода беременности, и на их потомстве, которое составило примерно 50-60 крысят, часть из них была использована в экспериментах, а некоторые по тем или иным причинам погибали. Животные получали полноценный рацион и использовались в экспериментах после двухнедельной адаптации к условиям вивария. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20-22<sup>0</sup>С, что находится в пределах термонеutralной зоны для крыс. Используемая в эксперименте модель психоэмоционального стресса включает в себя сочетанное воздействие двух экзогенных факторов: звукового и светового раздражителей. Параметры экспозиции: звук – мощностью 70 дБ, частотой 4 кГц, свет – частотой 13Гц, длительностью воздействия 350 сек с интервалами между воздействиями в 1500 сек (6 экспозиций за сутки). В отличие от широко используемых жестких моделей стресса (иммобилизация и др.), данная модель была приближена к условиям не экстремальных, а повседневных хронических эмоциогенных воздействий, обычно испытываемых беременными женщинами в быту.

Определение уровня гормона в исследуемых группах проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) Elisa на автоматическом иммуноферментном анализаторе „Statfax 3200 microplate reader” (Awareness Technologies-USA) с использованием специального тест-набора следующей фирмы: Prolaktin-Prl – Human GmbH, Wiesbaden – Германия в соответствии с инструкциями производителя. Обработка данных, построение кривой, анализ ошибки метода и интерполяция конечных результатов производились на компьютере Toshiba Satelite L 10-100 с использованием компьютерной программы WHO Immunoassay Program (A 5.2 P. R. Edwards-Molecular Endocrinology 1/5/88). Материалом для определения концентрации пролактина служила сыворотка крови. Для получения сыворотки кровь забирали методом кардиопункции, после чего центрифугировали со скоростью 2000 об/мин в течение 10 мин. Отделившуюся сы-

воротку хранили в морозильной камере при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  с последующим определением в ней уровня пролактина.

Изучение уровня пролактина в крови проводилось у крыс обеих групп до, в различные сроки беременности (4-5-й и 20-21-й дни) и действия стресса, а также у их потомства в первые 4-5 дней после их рождения.

Полученные результаты обработаны статистически с применением пакета программ Statistica 10. Использовались стандартные показатели вариационной статистики, такие как среднее значение (M), стандартное отклонение среднего значения (m). Для определения достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента. Достоверными считаются данные, где  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Как показали результаты нашего исследования, содержание пролактина в крови крыс в динамике развития беременности претерпевает определенные изменения (табл.). Так, если у небеременных крыс оно составляло  $2,37 \pm 0,25$  нг/мл, то на 4-5-й день беременности несколько повысилось и составило  $2,45 \pm 0,71$  нг/мл ( $p > 0,05$ ), а к 20-21-му дню –  $2,72 \pm 0,62$  нг/мл ( $p < 0,05$ ). Это свидетельствует о том, что беременность в динамике

*Таблица*  
*Содержание пролактина в крови беременных крыс, перенесших стресс, и у их потомства*

Группы животных	Сроки исследования и определяемый гормон			
	за 1 день до беременности	4-5-й день беременности	20-21-й день беременности	4-5-й день после родов
	Пролактин, нг/мл			
Беременные крысы (контроль)	$2,37 \pm 0,25$	$2,45 \pm 0,71$ $p > 0,05$	$2,72 \pm 0,62$ $p < 0,05$	
Беременные крысы (стресс с 1-го по 20-й день беременности)	$2,39 \pm 0,14$	$2,87 \pm 0,73$	$3,07 \pm 0,36$	
Показатели достоверности (p)	по горизонтали	$p < 0,05$	$p < 0,05$	
	по вертикали	$p < 0,05$	$p < 0,05$	
Крысята контрольной группы беременных крыс				$2,42 \pm 0,26$
Крысята стресс-группы беременных крыс				$4,0 \pm 1,34$ $p < 0,005$

развития приводит к повышению уровня пролактина. Об этом свидетельствуют и данные исследований ряда авторов [8, 19]. Так, например, установлено, что уровень пролактина и эстрогенов постепенно увеличивается на протяжении всей беременности. Результаты некоторых исследований свидетельствуют в пользу стимулирующего действия эстрогенов на выработку пролактина, что может объяснить параллельное повышение концентраций этих гормонов во время беременности [6]. Одновременно показано, что быстрое уменьшение уровня эстрогенов, прогестерона и хорионического гонадотропина во время родов сопровождается дополнительным увеличением уровня пролактина [9]. У животных гормональный профиль также определяется сроком беременности. Сразу после начала беременности у крыс возрастает уровень пролактина, действие которого примерно в течение десяти дней вызывает секрецию прогестерона желтым телом, поддерживая беременность. После этого роль стимуляторов желтого тела берут на себя плацентарные лактогены [7]. Уровень эстрадиола у крыс не меняется или становится меньше, чем у небеременных крыс, количество альдостерона существенно возрастает во второй половине беременности [17]. У крыс пролактин необходим для поддержания секреторной активности желтого тела и поэтому играет роль в сохранении беременности на ее ранних стадиях. У человека этот эффект, по-видимому, не является обязательным, хотя для продукции прогестерона клетками гранулезы человека все же нужны небольшие количества пролактина [20]. На протяжении беременности содержание пролактина непрерывно увеличивается вплоть до родов, после которых оно начинает снижаться, и даже при продолжающемся кормлении грудью через несколько месяцев возвращается к уровню, характерному для небеременных.

Определенные изменения обнаружены и при сравнительном анализе изменений уровня пролактина в крови беременных крыс до и после действия психоэмоционального стресса. Согласно данным нашего исследования, во время действия хронического стресса у беременных крыс уровень пролактина составляет  $2,87 \pm 0,73$  нг/мл ( $p < 0,05$ ) в раннем периоде беременности (4-5-й день) и  $3,07 \pm 0,36$  нг/мл ( $p < 0,05$ ) в позднем периоде (на 20-21-й день). Сравнение полученных результатов с данными уровня пролактина у беременных крыс до воздействия стресса ( $2,39 \pm 0,14$  нг/мл) свидетельствует об увеличении количества гормона в различные сроки стресса беременных. Это также совпадает с мнением ряда авторов [5, 12]. Причем, эти изменения отчетливо проявляются как при сравнительном анализе данных у одних и тех же крыс до и в различные сроки беременности и действия стресса, так и при сравнении результатов, полученных в одни и те же сроки исследования у не подвергнутых и подвергнутых стрессу беременных крыс.

У крысят, родившихся от беременных крыс, не подвергнутых и подвергнутых стрессу, уровень пролактина составляет соответственно

2,42±0,26 нг/мл и 4,0±1,34 нг/мл, т.е. у животных, перенесших пренатальный стресс, уровень гормона повышается почти вдвое. Причем, при сравнении уровня пролактина у потомства и у взрослых животных оказалось, что у потомства уровень данного гормона выше, чем у половозрелых животных. Так, например, у крыс контрольной группы до беременности он составлял 2,37±0,25 нг/мл, а у их крысят 2,42±0,26 нг/мл ( $p>0,05$ ), у крыс опытной группы до действия стресса и развития беременности он составлял 2,39±0,14 нг/мл, а у крысят беременных крыс, перенесших пренатальный стресс, – 4,0±1,34 нг/мл ( $p<0,005$ ). Это также подтверждается исследованиями некоторых авторов [15].

Показано, что секреция пролактина в гипофизе человеческого плода выявляется на 5-7-й неделе эмбрионального развития и с 20-й недели беременности содержание пролактина прогрессивно увеличивается. К концу беременности содержание пролактина в сыворотке крови плода достигает 150 мкг/л. По мнению большинства исследователей, такая гиперсекреция пролактина индуцирована эстрогенами матери [18]. После родов концентрация пролактина в сыворотке крови снижается и к 4-6-й неделе после родов достигает уровня, наблюдаемого у взрослых [1]. У плода уровень пролактина в плазме очень высок и после 20-й недели беременности может превышать 300 нг/мл. В момент родов в крови пупочной вены содержится больше пролактина, чем в материнской крови, что убедительно свидетельствует о секреции пролактина именно плодом. У анэнцефалов определяют аналогичные концентрации гормона, что указывает на необязательность сохранности гипоталамуса для развития пролактин-секретирующей функции плода. Пролактин секретируется также хорион-децидуальной тканью плаценты, и в амниотической жидкости он содержится в высокой концентрации [14]. За несколько первых месяцев жизни содержание пролактина у новорожденных снижается до уровня, наблюдаемого у взрослых. Половые различия в содержании пролактина возникают в пубертатном периоде и обуславливаются, главным образом, эффектами эстрогенов.

Таким образом, резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что стресс беременных сопровождается активацией деятельности не только стрессреализующей системы, но и стресслимитирующей, в частности, его пролактинового звена, что следует рассматривать в качестве защитного механизма, повышающего устойчивость организма к психоэмоциональному стрессу при беременности.

*Поступила 29.05.14*

## **Խրոնիկական սթրեսի ենթարկված հղի առնետների և նրանց սերնդի արյան պրոլակտինի քանակական փոփոխությունները**

**Մ. Յու.Սարոյան, Ա.Դ. Խուդավերդյան**

Իմունաֆերմենտային վերլուծության մեթոդով որոշվել է հղիության նորմալ ընթացք ունեցող և հղիության ողջ ընթացքում խրոնիկական հոգեհուզական սթրեսի ենթարկված առնետների արյան պրոլակտինի քանակը: Բացահայտվել է առնետների արյան պրոլակտինի քանակի ավելացում հղիության զարգացման դինամիկայում և խրոնիկական հոգեհուզական սթրեսի ազդեցությամբ: Բացահայտված փոփոխությունները ավելի արտահայտված էին հղիության զարգացման վերջին ժամկետներում, ընդ որում, խրոնիկական հոգեհուզական սթրեսի ենթարկվածների մոտ դրանք ավելի էին արտահայտված, քան նորմալ հղիության ընթացք ունեցող առնետների մոտ: Պրոլակտինի քանակի ավելացում նկատվել է նաև հետազոտված կենդանիների սերնդների մոտ:

Ներկայումս քննարկվում են այս փոփոխությունների և դրանց հետևանքների հնարավոր մեխանիզմները:

## **Changes in prolactin level in the blood of pregnant rats, exposed to chronic stress, and their offspring**

**M.Yu. Saroyan, A.D. Khudaverdyan**

We have conducted ELISA analysis to determine prolactin levels in the rats' blood during normal pregnancy and those exposed to chronic psycho-emotional stress throughout the entire period of pregnancy, as well as in their offspring. An increase in blood prolactin levels has been shown in rats in the dynamics of pregnancy and chronic action of psycho-emotional stress. The observed changes have been more pronounced in the last period of pregnancy, especially in pregnant rats subjected to the action of chronic psycho-emotional stress, than in those with normal pregnancy. Elevated prolactin levels have been observed in the offspring of the studied groups of animals.

The possible mechanisms of these changes and their consequences are discussed.

## Литература

1. Неонатология. Нац. руководство, под ред. Н.Н. Володина. М., 2009, с.108.
2. *Ордян Н. Э.* Нейроэндокринные механизмы действия материнского стресса на адаптивные функции и поведение потомков. В кн.: Основы эндокринологии, под ред. В.Г.Шалапиной и П.Д. Шабанова, СПб., 2005, с. 307-336.
3. *Пацернак С.А.* Стресс. Вегетозы. Психосоматика. СПб., 2002, с. 384.
4. *Юматов Е.А., Мецьякова О.А.* Бюл.эксперим. биологии и медицины. 1990, т. 110, 10, с.346.
5. *Biswas S., Rodeck C.H.* Plasma prolactin levels during pregnancy. Br. J. Obstet. Gynaecol., 1976. 83(9): 683-687.
6. *Caligaris I., Taleisnik D.* Prolactin release induced by stress and the influence of oestrogen and progesterone treatments, sex and daily rhythm. Acta Endocrinol., 1983, Vol. 102, p.505-510.
7. *Chrousos G.P., Torpy D.J., Gold P.W.* Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. Ann. Intern. Med., 1998, 129: 229-240.
8. *Darling M.R., Hawkins D.F.* Sex hormones in pregnancy. Clin. Obst. Gynaecol., 1981, 8(2): 405-419.
9. *Demarest K.T., Moore K.E., Riegler G.D.* Acute restraint stress decreases dopamine synthesis and turnover in the median eminence: a model for the study of the inhibitory neuronal influences on tuberoinfundibular dopaminergic neurons. Neuroendocrinology, 1985, Vol. 41, p. 437-444.
10. *Drago F., Amir S.* Effects of hyperprolactinemia on core temperature of the rat. Brain Research Bull., 1984, Vol. 12, p. 355-358.
11. *Drago F., Amir S., Continella G., Alloro M.C., Scapagnini U.* Effects of endogenous hyperprolactinemia on adaptive responses to stress. Prolactin, Basic and Clinical Correlates. (Ed. by R.M. MacLeod, M.O. Thorner, U. Scapagnini) Padova (Italy): Liviana Press, 1985, p. 609-614.
12. *Drago F., Bohus F., Matheu J.A.M.* Endogenous hyperprolactinemia and avoidance behaviors of the rat. Physiol. Behavior, 1982, Vol. 28, p. 1-4.
13. *El-Feki A., Sakly M.* Impairment of stress-induced secretion of prolactin during development: effects of adrenalectomy. TRH and sulpiride. J. Physiol., 1988, Vol. 83, p. 36-42.
14. *Fluckiger E., Del Pozo E., von Werden K.* Prolactin: physiology, clinical findings. Berlin: Springer-Verlag, 1982, p. 224-249.
15. *Gala R.* The physiology and mechanisms of stress-induced changes in prolactin secretion in the rat. Life Sci., 1990, Vol 46, p. 1407-1420.
16. *Garland T. and Else P. L.* Seasonal, sexual and individual variation in endurance and activity metabolism in lizards. Am. J. Physiol., 1987, 252, p.439-449.
17. *Goebelsmann U.* Protein and steroid hormones in pregnancy. J.Repr. Med., 1979, 23(4): 166-177.
18. *Johnston J.M., Yasuda K.* The hormonal regulation of platelet-activating factor-acetylhydrolase in the rat. Endocrinology, 1992, 130(2), p.708-16.
19. *Mermet C.C., Gonon F.G.* Ether stress stimulates noradrenaline release in the hypothalamic paraventricular nucleus. Neuroendocrinology. 1988, Vol.47, p. 75-82.
20. *Ramaswamy S., Pillai N.P., Bapna J.S.* Analgesic effect of prolactin: possible mechanism of action. Eur. J. Pharmacol., 1983, Vol. 96, p. 171-173.
21. *Riegler G.D., Meites J.* The effect of stress on serum prolactin in the female rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1976, Vol. 152, p. 441-448.