

УДК 612.453.018

Влияние психоэмоционального стресса на содержание адренокортикотропного гормона и кортизола в крови беременных крыс и их потомства

**Д.Н. Худавердян¹, М.Ю. Сароян¹, А.Д.Худавердян²,
А.А. Арутюнян³**

*¹Кафедра физиологии, ²кафедра акушерства и гинекологии N 2,
³НИЦ ЕГМУ им.М.Гераци
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: пренатальный стресс, адренокортикотропный гормон (АКТГ), кортизол, крысы

В последние годы интенсивно изучается проблема влияния пренатального стресса на процессы постнатального развития организма, а также развивающиеся при этом психосоматические расстройства и методы их медикаментозной компенсации. Как известно, в период неонатального развития и формирования морфофункциональных связей, любое неблагоприятное воздействие, и в частности стресс, может отразиться на развитии плода, вызывая угнетение функциональной активности различных систем и даже структурные перестройки органов и тканей, что представляется крайне важным для понимания роли пренатального стресса в развитии патологий у потомства [22,25,26].

В настоящее время накоплено значительное количество эпидемиологических данных о том, что разнообразные стрессы, испытываемые беременными, приводят к задержке развития плода, а также являются фактором риска возникновения у их потомков различных сердечно-сосудистых, метаболических, нейропсихических и нейроэндокринных заболеваний, таких как гипертония, ишемическая болезнь сердца, диабет 2-го типа, аффективные расстройства и др. [20,21,24]. Причем, эти последствия в большинстве исследований последних лет связывают с гормональными нарушениями, наблюдаемыми у матери и плода при стрессе беременных [1,6,19,27]. Более того, выявлено, что стресс, который матери переживали задолго до беременности или непосредственно перед зачатием, вызывает у их потомства различные психоэмоциональные отклонения [15]. У подопытных крысят после стресса матерей выявлены иммунные и неврологиче-

ческие расстройства [29], а также изменения нейроэндокринной регуляции репродукции и стресс-реактивности [13].

Однако ознакомление с этими работами показывает их в основном констатационный характер, без представления сравнительных данных о количественных изменениях гормонального баланса в системе мать – плод у беременных, переносящих стресс.

Исходя из этого, особую значимость могли иметь результаты экспериментальных исследований содержания стрессреализующих гормонов – АКТГ и кортизола в системе мать – плод у беременных животных, переносящих стресс, чему и посвящено настоящее исследование.

Материал и методы

Исследования проведены на 30 беспородных беременных крысах, которые были разделены на 2 группы: по 15 крыс с нормально протекающей беременностью и крыс, подвергнутых действию хронического стресса на протяжении всего периода беременности. Потомство от обеих групп составило 50-60 крысят (по 2-4 от каждой беременной крысы), часть из которых была использована в экспериментах, а некоторые по тем или иным причинам погибали.

Группы беременных крыс подбирались следующим образом. После случки с крысами-самцами оценивалась возможность возникновения беременности путем исследования влагалищных мазков на наличие сперматозоидов, обнаружение которых, согласно принятым представлениям [5], считается признаком возникновения беременности или нулевым сроком беременности. При этом, однако, беременность возникала и нормально развивалась в 65-70% случаев, а в остальных – по тем или иным причинам прерывалась. Естественно, в эксперимент шли крысы с нулевым сроком беременности (забор крови, стрессирование и пр.), однако, уже к концу первых 7-10 дней после случки можно было с достоверностью констатировать факт развития беременности, после которого продолжали исследоваться лишь те крысы, у которых развивалась беременность, а остальные, со всеми ранее полученными у них данными, отсеивались.

Животные получали полноценный рацион и использовались в экспериментах после двухнедельной адаптации к условиям вивария. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20-22⁰С, что находится в пределах термонейтральной 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, испытываемых беременными женщинами в быту.

Определение уровня гормонов проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием EIA- 3647 ACTH ELISA DRG, EIA-1887 Cortisol ELISA DRG. Материалом для определения концентрации кортизола служила сыворотка крови, а для определения АКТГ – плазма. Для получения сыворотки кровь забирали методом кардиопункции, после чего центрифугировали со скоростью 2000 об/мин в течение 10 мин. Отделившуюся сыворотку хранили в морозильной камере при температуре -20°C . Для получения плазмы кровь забирали непосредственно в специальные пробирки, стенки которых покрыты тонким слоем ЭДТА (этилендиаминтетраацетат), и центрифугировали в течение 10 минут со скоростью 2000 об/мин. Плазму хранили при температуре -20°C .

Изучение уровня АКТГ и кортизола 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. Этот период в акушерской практике рассматривается в качестве перинатального (от 21-22-го дня внутриутробного развития до 7-го дня после рождения) или раннего неонатального периода.

Результаты и обсуждение

Проведен сравнительный анализ содержания стрессреализующих гормонов – АКТГ и кортизола – в крови небеременных и беременных крыс, а также у потомства последних в динамике развития беременности и в условиях действия на них психоэмоционального стресса.

Как показали исследования, содержание АКТГ и кортизола в крови крыс в динамике развития беременности претерпевает определенные изменения (табл.). Так, если содержание АКТГ и кортизола у небеременных крыс составляло $53,55 \pm 6,62$ пг/мл и $103,5 \pm 16,54$ нг/мл соответственно, то на 4-5-й день беременности оно доходило до $89,97 \pm 3,77$ пг/мл ($p < 0,01$) для АКТГ и $219,34 \pm 33,49$ нг/мл ($p < 0,001$) для кортизола, а к 20-21-му дню $73,47 \pm 2,83$ пг/мл ($p < 0,05$) для АКТГ и $196,3 \pm 41,05$ нг/мл ($p < 0,05$) для кортизола, это свидетельствует о том, что беременность приводит к повышению их уровня в динамике ее развития (табл.). Интересно, что в конечные сроки беременности содержание исследуемых гормонов несколько понижается и приближается к исходным показателям. Эти изменения, как мы полагаем, можно объяснить с позиций оценки состояния беременности как тревожности с характерным для таких состояний возрастанием уровня стрессреализующих гормонов в крови. Следует также допустить, что наблюдаемое на поздних сроках развития беременности понижение их уровня по сравнению с показателями, зарегистрированными в начальные

сроки беременности, может быть следствием адаптационных перестроек организма беременных в конечные сроки беременности, что совпадает с мнением и других авторов [7,12,16].

Таким образом, следует заключить, что беременность, как динамично развивающийся физиологический процесс, сопровождается колебаниями уровня стрессреализующих гормонов в крови с повышением их содержания, особо выраженным в ранние сроки беременности, и понижением в поздние.

Существенные изменения обнаружены и при сравнительном анализе изменений уровня АКТГ и кортизола в крови беременных крыс до и после действия психоэмоционального стресса. 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 (анализ данных по горизонтали), так и при сравнении результатов, полученных в одни и те же сроки исследования у не подвергнутых и подвергнутых стрессу беременных крыс (анализ по вертикали).

Таблица
Содержание АКТГ и кортизола в крови беременных крыс, перенесших стресс, и у их потомства

Группы животных	Сроки исследования и определяемые гормоны							
	За 1 день до беременности		4-5-й день беременности		20-21-й день беременности		3-4-й день после родов	
	АКТГ, пг/мл	кортизол, нг/мл	АКТГ, пг/мл	кортизол, нг/мл	АКТГ, пг/мл	кортизол, нг/мл	АКТГ, пг/мл	кортизол, нг/мл
Беременные крысы (контроль)	53,55±6,62	103,5 ± 16,54	89,97±3,77 p<0,01	219,34 ± 33,49 p<0,001	73,47±2,83 p<0,05	196,3 ± 41,05 p<0,01	-	-
Беременные крысы (стресс с 1-го по 20-й день беременности)	56,85±4,93	105,2 ± 18,23	110,01±5,94	275,94 ± 53,95	77,74±5,12	211,04 ± 33,81	-	-
Показатели достоверности (p)	по горизонтали		p<0,001	p<0,01	p<0,05	p<0,001		
	по вертикали		p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05		
Крысята контрольной группы беременных крыс	-	-	-	-	-	-	126,6±3,34	16,76 ± 3,96
Крысята стресс-группы беременных крыс	-	-	-	-	-	-	177,7±6,28 p<0,001	23,32 ± 3,86 p<0,001

Как видно из представленных в таблице данных, у беременных крыс, подвергнутых стрессу, наблюдается достоверное возрастание уровня

АКТГ и кортизола в крови на 4-5-й день развития беременности ($56,85 \pm 4,93$ пг/мл для АКТГ и $105,2 \pm 18,23$ нг/мл для кортизола за 1-2-й день до беременности и $110,01 \pm 5,94$ пг/мл для АКТГ и $275,94 \pm 53,95$ нг/мл для кортизола на 4-5-й день беременности, сопровождающейся воздействием стрессора, начиная с первого дня беременности). Действие стрессора на протяжении всего периода беременности (до 20-21-го дня) также сопровождается повышением уровня исследуемых стрессреализующих гормонов, хотя и менее выраженным по сравнению с 4-5-м днем исследований. Аналогичной направленности достоверные изменения обнаружены и при сравнительном анализе данных, полученных у не подвергнутых и подвергнутых стрессу беременных крыс. Причем, следует подчеркнуть, что хотя уровень гормонов у стрессированных крыс к концу беременности несколько понижается ($77,74 \pm 5,12$ пг/мл для АКТГ и $211,04 \pm 33,81$ нг/мл для кортизола), он оказывается выше таковых, зарегистрированных у неподвергнутых стрессу беременных в те же сроки исследования: для АКТГ на 5,8% ($73,47 \pm 2,83$ пг/мл) и для кортизола на 7,5% ($196,3 \pm 41,05$ нг/мл).

Интересными представляются данные о колебаниях уровня АКТГ и кортизола у крысят, родившихся от беременных крыс, неподвергнутых и подвергнутых стрессу. Так, содержание АКТГ и кортизола в крови крысят, матери которых не подвергались действию психоэмоционального стресса, составляет соответственно $126,6 \pm 3,34$ пг/мл для АКТГ и $16,76 \pm 3,96$ нг/мл для кортизола. Уровень АКТГ в крови крысят, перенесших пренатальный стресс, возрос и составил $177,7 \pm 6,28$ пг/мл ($p < 0,001$), а кортизола $23,32 \pm 3,86$ нг/мл ($p < 0,001$). В литературе имеются противоречивые мнения по данному факту. По мнению ряда авторов, уже в первые дни после рождения надпочечники и гипофиз новорожденного активно функционируют [3,11]. Надпочечники новорожденного могут продуцировать кортикостероиды сразу после рождения [28] и к концу 2-й недели жизни обеспечивают такую же секрецию кортизола, как взрослые [23].

Таким образом, в условиях действия психоэмоционального стресса наблюдается возрастание уровня стрессреализующих гормонов как в крови беременных крыс, так и у их потомства. Следует, однако, отметить, что не у всех крыс действие стресса сопровождалось изменением уровня АКТГ и кортизола в крови. Примерно в 15-20% случаев изменений в содержании гормонов после действия стресса не обнаружено, это свидетельствует о том, что определенная часть беременных крыс стресс-ареактивна. Анализ литературы показывает, что как среди животных, так и у людей обоих полов есть стресс-ареактивные субъекты, количество которых колеблется в пределах 5-10%. Клинические и экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что в однотипных условиях нервно-эмоционального напряжения обнаруживаются отчетливые индивидуаль-

ные различия в устойчивости людей к эмоциональному стрессу [2,4,8 – 10,14].

Эти данные почти в 2-2,5 раза ниже полученных нами показателей, что указывает на то, что беременность каким-то образом повышает степень резистентности организма к действию стрессогенных факторов среды. Это, как мы полагаем, может быть связано с изначальным возрастанием уровня стрессреализующих гормонов в крови беременных крыс с соответствующим повышением их резистентности к действию различных раздражителей.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что беременность сопровождается активацией деятельности стрессреализующей системы, что следует рассматривать в качестве адаптивного механизма, мобилизующего защитно-приспособительные возможности при беременности. Наблюдаемые колебания уровня стрессреализующих гормонов в крови беременных крыс, переносящих стресс, и у их потомства, в свою очередь, указывают на усиление адаптационно-трофических процессов в организме пренатально стрессированных крыс и у их потомства. С учетом того, что одним из механизмов действия гормонов является их морфогенетическое влияние, не исключено, что возрастание уровня гормонов в крови пренатально стрессированных крыс может привести к определенным изменениям формирования органов и систем плода у беременных крыс, переносящих стресс, с определенными изменениями их деятельности в постнатальном онтогенезе, на что указывают и другие исследования [2,17,18].

Поступила 27.03.14

Հոգեհուզական սթրեսի ազդեցությունը ԱԿՏՀ-ի և կորտիզոլի պարունակության վրա արյան մեջ հղի առնետների ու նրանց սերնդի մոտ

**Դ.Ն. Խուդավերդյան, Մ.Յու. Մարոյան, Ա.Դ. Խուդավերդյան,
Հ.Ա. Հարությունյան**

Իմունաֆերմենտային վերլուծության մեթոդով քրոնիկ սթրեսի ենթարկված և չենթարկված առնետների, ինչպես նաև նրանց սերունդների մոտ՝ վաղ հետծննդյան շրջանում որոշվել են արյան ԱԿՏՀ-ի և կորտիզոլի քանակությունները: Ինչպես հղիության զարգացման դինամիկայում, այնպես էլ ողջ հղիության ընթացքում սթրեսի ենթարկված առնետների խմբերում նկատվել է ԱԿՏՀ-ի և կորտիզոլի քանակի ավելացում, որն առավել արտահայտված է եղել սթրեսի ենթարկված առնետների խմբում: Ընդ որում, որպես կանոն, հղիության վաղ ժամ-

կետներում (4-5 օրական) հորմոնների քանակը ավելի բարձր էր, քան հղիության վերջում (20-21 օրական): Հորմոնների քանակի ավելացում նկատվել է նաև ձագերի արյան մեջ:

Քննարկվում են նկատված փոփոխությունների և դրանց հետևանքների հնարավոր մեխանիզմները:

Psycho- emotional stress influence on ACTH and cortisol content in the blood of pregnant rats and their offspring

**D.N. Khudaverdyan, M.Yu. Saroyan, A.D. Khudaverdyan,
H.A. Haroutyunyan**

We conducted a study of ACTH and cortisol content in the blood of pregnant rats and their offspring, which had been subjected to the chronic stress action in the early postnatal development, using ELISA.

In experimental and sham rats blood there was detected an increase of the content of ACTH and cortisol, more pronounced in animals subjected to stress. Moreover, as a rule, the content of hormones in the early stages of pregnancy (days 4-5) was higher than that determined at the end of the pregnancy (20-21 days) and the action of stress. An increase in the level of hormones was found in the blood of the offspring also.

There are discussed possible mechanisms of the revealed changes and their consequences.

Литература

1. *Аведисова А.С.* Тревожные расстройства. В кн: Александровский Ю.А. "Психические расстройства в общемедицинской практике и их лечение". М., 2004, с. 66-73.
2. *Бобровицкий И.П., Кукишин Ю.А., Усов В.М.* Актуальные вопросы создания экспертно-консультативных систем. Клинико-физиологические аспекты мед. реабилитации летного состава: Тез. Научно-практ. конф. Гатчина, 1996, с. 21-22.
3. *Вельтищев Ю.Е., Лебедев В.Л., Калмыкова И.Н.* Физиология коры надпочечников. В кн.: Таболин В.А. Функции надпочечников у плодов, новорожденных и грудных детей. М., 1975, с. 43-70.
4. *Ворона А.А. и др.* Разработка средств и методов диагностики и профилактики неблагоприятного действия профессионально вредных факторов деятельности. М., ГНИИИ ВМ, 2003, с.71.
5. *Вьюшина А.В., Притворова А.В., Флеров М.А.* Влияние пренатального стресса на окислительную модификацию белков головного мозга крыс в онтогенезе. Нейрохимия, 2012, т. 29, 3, с.240-246.
6. *Грандильевская И.В.* Психологические особенности реагирования женщин на выявленную патологию беременности. Автореф. дис. ... канд. психол. наук : 19.00.04, С.-Петербург. гос. ун-т., СПб., 2004.
7. *Дмитриева Т.Б., Дроздов А.З., Коган Б.М.* Основные неспецифические системы, адаптирующие организм к острому и хроническому стрессу. Психиатрия чрезвычайных ситуаций. Руководство. М., 2004, с. 8-41.

8. *Кантур В.А., Яцков А.П.* К вопросу о механизмах действия стрессовых факторов на организм летчиков. Стресс на рубеже 21 века. Мат. 1-й Междунар. конференции. Владивосток, 2000, с. 21-25.
9. *Китаев-Смык Л.А.* Вероятностное прогнозирование и индивидуальные особенности реагирования человека в экстремальных условиях. Вероятностное прогнозирование в деятельности человека. М., 1977, с.189-225.
10. *Мингалева А.Н., Дельянов К.В., Пухляк Д.В., Патахов П.П., Абушкевич В.Г.* Количественная оценка стрессоустойчивости у студентов. Медицинские науки, 2009, 9, с. 57-60.
11. *Мицкевич М.С.* Гормональные регуляции в онтогенезе животных. М., 1978.
12. *Пишеникова М.Г.* Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2000, 3, с. 20-26.
13. *Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д., Ткачук С.С., Мыслицкий В.Ф.* Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология. Черновцы, Медакадемия, 2004, с. 320.
14. *Селье Г.* Стресс без дистресса. пер. с англ., М., 1982, с. 126.
15. *Татарчук Т.Ф.* Стресс и репродуктивная функция женщины. Междунар. эндокринологический журнал, 2006, 3(5) с.2-9.
16. *Ardekani A.M., Maghsudi N., Mefour A., Ghasemi R., Lakpour N., Nooshinfar E. et al.* Stress-Induced Proteomic Changes in the Hippocampus of Pregnant Wistar Rats. Avicenna Journal of Medical Biotechnology, 2011;3(4):157-166.
17. *Dodic M., Moritz K., Wintour E.M.* Prenatal exposure to glucocorticoids and adult disease. Archives of physiology and biochemistry, 2003;111(1):61-69.
18. *Federenko I.S., Wadhwa P.D.* Women's mental health during pregnancy influences fetal and infant developmental and health outcomes. CNS Spectr., 2004; 9(3):198-206.
19. *Gavin N.I., Gaynes B.N., Lohr K.N., Meltzer-Brody S., Gartlehner G., Swinson T.* Perinatal depression: a systematic review of prevalence and incidence. Obstetrics & Gynecology, 2005;106:5(Part 1):1071-1083.
20. *Heim C., Nemeroff C.B.* The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. Biological psychiatry, 1999;46(11):1509-1522.
21. *Levitt N.S., Lambert E.V., Woods D., Hales C.N., Andrew R., Seckl J.R.* Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, nonobese, young South African adults: early programming of cortisol axis. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2000 Dec;85(12):4611-4618.
22. *McTernan C.L., Draper N., Nicholson H., Chalder S.M., Driver P., Hewison M. et al.* Reduced placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 mRNA levels in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction: an analysis of possible mechanisms. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2001 Oct;86(10):4979-4983.
23. *Migeon C.J., Wall P.E., Bertrand J.* Some aspects of the metabolism of 16-C14-estrone in normal individuals. Journal of Clinical Investigation, 1959;38(4):619-629.
24. *O'Connor T.G., Heron J., Golding J., Glover V.* Maternal antenatal anxiety and behavioural/emotional problems in children: a test of a programming hypothesis. Journal of Child Psychology and Psychiatry, 2003;44(7):1925-1936.
25. *Riecher-Rössler A., Steiner M.* Perinatal stress, mood and anxiety disorders: from bench to bedside. Karger Medical and Scientific Publishers; 2005, 173, p.150-166.
26. *Seckl J.R., Nyirenda M.J., Walker B.R., Chapman K.E.* Glucocorticoids and fetal programming. Biochem. Soc. Trans., 1999;27(2):74-78.
27. *Soares C.N., Steiner M.* Perinatal depression: searching for specific tools for a closer look at this window. The Journal of clinical psychiatry, 2009;70(9):1317-1318.
28. *Venning E.H., Randall J.P., Gyorgy P.* Excretion of glucocorticoids in the newborn. Endocrinology, 1949;45(4):430-434.
29. *Weinstock M.* Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring. Progress in neurobiology, 2001;65(5):427-451.