

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ОРИГИНАЛЬНЫХ И ПЕРСПЕКТИВНЫХ БИОМЕДИЦИНСКИХ И
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ»

На правах рукописи

ЛЮБИМОВА АНАСТАСИЯ ЮРЬЕВНА

**НОЦИЦЕПТИВНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И ИММУННЫЕ
ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО
ОНТОГЕНЕЗА ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО СТРЕССА**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

1.5.5 – Физиология человека и животных

Научный руководитель:

член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук,
профессор РАН,
Заслуженный деятель науки РФ
Перцов Сергей Сергеевич

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	3
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
2.1. Общие особенности пренатального и постнатального развития крыс.....	16
2.2. Ноцицептивная система крыс. Половые и возрастные особенности болевой чувствительности	20
2.3. Общие особенности компонентов иммунной системы крыс	25
2.3.1. Иммунокомпетентные органы: тимус и селезёнка	26
2.3.2. Цитокины	30
2.4. Стресс и его влияние на физиологическое развитие крыс.....	37
2.4.1. Пренатальный стресс.....	38
2.4.2. Стресс и ноцицепция	41
2.4.3. Стресс и иммунная система	42
3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	48
3.1. Условия содержания животных.....	48
3.2. Экспериментальная модель стрессорного воздействия	48
3.3. Изучение ноцицептивной чувствительности крыс	49
3.3.1. Регистрация перцептуального компонента ноцицепции	49
3.3.2. Регистрация эмоционального компонента ноцицепции.....	50
3.4. Определение относительной массы иммунокомпетентных органов – тимуса и селезёнки	50
3.5. Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс.....	50
3.6. Дизайн эксперимента.....	52
3.7. Статистическая обработка данных.....	55
4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	56
4.1. Ноцицептивная чувствительность после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза	57
4.2. Состояние иммунокомпетентных органов после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза.....	64
4.3. Концентрация цитокинов в сыворотке периферической крови после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза.....	70
4.4. Корреляционный анализ ноцицептивных и иммунных показателей после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза.....	76
5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	83
6. ВЫВОДЫ.....	104
7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	106
8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Условия жизни человека в современном обществе часто способствуют возникновению ситуаций, приводящих к формированию состояния стресса. В настоящее время накоплены убедительные доказательства, иллюстрирующие высокую актуальность изучения особенностей физиологического развития млекопитающих после внутриутробного стресса (Николаева И.В., Белолубская Д.С., 2012; Губарева Л.И., 2021; Henry C. *et al.*, 1994; Lesage J., 2004). Стрессорные воздействия разной этиологии, продолжительности и интенсивности могут сопровождаться патологией беременности, следствием чего является нарушение гомеостаза в организме матери (Wang D. *et al.*, 2020a; Wang D. *et al.*, 2020b), а также отклонения в формировании различных систем плода (García-Vargas D. *et al.*, 2019). В частности, отрицательные эмоциогенные нагрузки оказывают выраженное влияние на процессы роста (Рыжавский Б.Я., Соколова Т.В., 2002) и развития организма (Zakharova L.A., 2019), поведение потомства (Николаева И.В., Белолубская Д.С., 2012).

Принимая во внимание наличие прямой взаимосвязи между условиями протекания беременности и состоянием здоровья новорождённого, изучение критических периодов пренатального развития привлекает большой интерес специалистов медико-биологического профиля (Токин Б.П., 1987; Тельцов Л.П. и др., 2008; Лебедев И.Н., 2011; Соколова Н.А., 2016; Zakharova L.A., 2019). Особое внимание в этом плане уделяется нарушениям, возникающим при воздействии патогенных факторов на развивающийся организм в данные периоды (Зайченко И.Н., 2000; Рыжавский Б.Я., Соколова Т.В., 2002; Смоленский И.В., 2018; Verstraeten B.S.E. *et al.*, 2019). Несмотря на постоянно растущее число публикаций, посвящённых влиянию пренатального стресса на потомство, значение этой проблемы с каждым годом возрастает.

На протяжении последних лет в отечественной и зарубежной научной литературе широко обсуждается вопрос фетального, или внутриутробного

программирования (Сандакова Е.А., Жуковская И.Г., 2019; Акарачкова Е.С. и др., 2019; Петров Ю.А., Купина А.Д., 2020; Lautarescu A. *et al.*, 2020). Известно, что в пренатальный период происходит программирование развития систем органов плода, регулирование которого происходит в критические периоды его внутриутробной жизни и зависит от состояния материнского организма (Джобава Э.М., 2018). Фетальным программированием называют период интенсивного деления клеток, сопровождающий органогенез плода. Согласно разрабатываемой концепции, в ответ на неблагоприятные условия пренатального развития у плода формируется адаптивный ответ, вызывающий структурные и физиологические изменения, которые могут проявиться и в постнатальной жизни (Щербаков В.И. и др., 2012).

Известно, что стресс матери во время беременности сопровождается повышенным влиянием глюкокортикоидов на мозг плода (Karoo A. *et al.*, 2006). Такое воздействие приводит к необратимым отклонениям функций гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса, расстройствам поведения, патологическим изменениям морфологии мозга, нарушениям механизмов эндокринной регуляции у потомства в новорождённом, ювенильном и взрослом возрасте. В экспериментальных работах, например, установлено, что плавание беременных самок крыс в холодной воде приводит к снижению показателей стресс-индуцированной анальгезии (Choi S.-J. *et al.*, 1998), повышению уровня кортикостерона у потомства во взрослом возрасте, нейроэндокринным изменениям, влияющим, в свою очередь, на иммунные функции у животных (García-Vargas D. *et al.*, 2019).

Необходимо отметить, что важную роль в развитии организма играет плацента, обеспечивающая доступность для развивающегося плода основных факторов, определяющих его рост – питательных веществ и кислорода (Сазонова Е.Н. и др., 2019). Именно поэтому различные повреждающие факторы, действующие на систему «мать – плацента – плод», вызывают нарушения в её функционировании, например, гипоксию.

Однако следует подчеркнуть, что эффекты пренатального стресса не всегда проявляются в отклонениях развития организма (Dipietro J., 2004; Roshan-Milani S. *et al.*, 2021). Это зависит от многих факторов, в частности, от характера и времени действия стрессогенного фактора на развивающийся организм, периода развития плода, пола и других.

В настоящее время значительное внимание уделяется изучению физиологических механизмов адаптации к факторам окружающей среды у млекопитающих, подвергнутых стрессорным нагрузкам. В частности, к ним относятся системные реакции на болевые воздействия (Козлов А.Ю. и др., 2015; Беляева Л.Е. и др., 2015; Алексеева И.В. и др., 2022). Такие вопросы, как патогенез боли и формирование болевой чувствительности, характеристика структурных компонентов и принципов функционирования ноцицептивной и антиноцицептивной систем, широко освещены в научной литературе (Butler R.K., Finn D.P., 2009; Bardin L. *et al.*, 2009; Shi M. *et al.*, 2010; Burke N.N. *et al.*, 2015; Hormozi A. *et al.*, 2018). Кроме того, имеются доказательства наличия возрастных и половых особенностей восприятия боли у млекопитающих (Ахмадеева Л.Р. и др., 2013; Данилов А.Б., Ильясов Р.Р., 2015; Абрамова А.Ю., 2020; Butler R.K., Finn D.P., 2009; Keogh E., Denford S., 2009).

Реализация адаптационных процессов при стрессорных нагрузках у млекопитающих во многом опосредована иммунными механизмами. Важно, что характер и направленность иммунного ответа различаются в условиях острого и хронического стресса (Комарова О.Н., Хавкин А.И., 2020). На сегодняшний день большинство исследователей сходятся во мнении о том, что острый стресс усиливает защитные процессы в организме, а хронический вызывает дистресс-синдром, который приводит к подавлению клеточного и гуморального звеньев иммунитета, способствует развитию патологических иммунных реакций. В ряде исследований показано влияние материнского стресса на показатели иммунных функций у потомства (Зайченко И.Н., 2000; Николаева И.В., 2012; Захарова Л.А., 2017; Смоленский И.В., 2018; Лифанцева Н.В. и др., 2020).

Одними из серьёзных последствий стрессорных воздействий являются качественные и количественные изменения цитокинового профиля крови, дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов и других эндогенных биологически активных соединений с иммуномодулирующими свойствами, усиленная продукция медиаторов воспаления (Рыбакина Е.Г. и др., 2012; Перцов С.С., 2017; Токарев А.Р., 2019; Комарова О.Н., Хавкин А.И., 2020; Котиева И.М. и др., 2022; Ślusarczyk J. *et al.*, 2015).

Необходимо подчеркнуть, что стрессорные нагрузки приводят также к изменению морфофункционального состояния иммунокомпетентных органов у млекопитающих. Указанный факт получил убедительные доказательства во многих экспериментальных исследованиях в области стресса: снижение числа тимоцитов вследствие их избыточного апоптоза (Федорова О.В. и др., 2016); перераспределение объёма и клеточного состава, структурно-функциональных зон тимуса (Гармаева Д.К. и др., 2019); морфологические признаки снижения активности (Клочкова С.В. и др., 2021) и изменения функциональных зон – опустошение – белой пульпы селезёнки (Кондашевская М.В., 2018).

Приведённые данные иллюстрируют актуальность, высокую научную и практическую значимость исследований, направленных на дальнейшее изучение физиологических механизмов поддержания гомеостаза организма при отрицательных эмоциогенных воздействиях, в частности, в условиях пренатального стресса. Чрезвычайно важным в этом аспекте является оценка половых и возрастных особенностей реализации компенсаторных процессов у млекопитающих, подвергнутых внутриутробным стрессорным нагрузкам.

Степень разработанности темы

Несмотря на значительный интерес и высокую актуальность изучения механизмов влияния пренатального стресса на потомство, многие вопросы в этой области остаются нерешёнными. В частности, недостаточно изучены половые различия ноцицептивных реакций у млекопитающих, подвергшихся влиянию отрицательных эмоциогенных факторов на этапе органогенеза. Неизвестна

специфика иммунных параметров – цитокинового профиля крови и состояния иммунокомпетентных органов – у потомства разного пола и возраста после внутриутробной стрессорной нагрузки. Не исследованы особенности взаимосвязей между показателями болевой чувствительности и иммунных функций у самцов и самок животных в различные периоды жизни после пренатального стресса. Представленная экспериментальная работа была посвящена решению указанных вопросов.

Цель исследования

Изучение изменений разных компонентов ноцицептивных реакций и иммунных параметров у крыс различного возраста и пола после пренатальной стрессорной нагрузки.

Задачи исследования

1. Проанализировать изменения перцептуального и эмоционального компонентов ноцицепции у самцов и самок крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки жизни после пренатального стресса на модели принудительного плавания в холодной воде.
2. Оценить характер влияния внутриутробного стресса на модели принудительного плавания в холодной воде на состояние иммунокомпетентных органов тимуса и селезёнки у самцов и самок крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки жизни.
3. Исследовать изменения уровня цитокинов – фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) – в периферической крови у самцов и самок крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки жизни после пренатального стресса на модели принудительного плавания в холодной воде.
4. Выявить взаимосвязи между изученными физиологическими показателями у самцов и самок крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки жизни в указанных экспериментальных условиях.

5. Установить возможные половые и возрастные особенности изменений ноцицептивной чувствительности и иммунных показателей у крыс после пренатального стресса на модели принудительного плавания в холодной воде.

Новизна исследования

В диссертационном исследовании впервые обнаружены половые и возрастные особенности изменений ноцицептивной чувствительности и иммунных показателей у крыс после пренатального стресса в период органогенеза на модели принудительного плавания в холодной воде.

Установлено, что внутриутробная стрессорная нагрузка приводит к ослаблению перцептуального компонента ноцицепции у потомства мужского и женского пола ювенильного возраста (60-е сутки), но не на более ранних стадиях постнатального развития. В этих экспериментальных условиях самцы крыс инфантильного возраста (30-е сутки) демонстрируют усиление степени эмоционального восприятия болевого раздражителя по сравнению с таковой у интактных особей.

Выявлено, что пренатальное стрессорное воздействие у самцов крыс сопровождается инволюцией тимуса на 21-е сутки (подсосный возраст), а также гипертрофией селезёнки на 30-е сутки жизни. После внутриутробного стресса у потомства женского пола относительная масса селезёнки возрастала на 30-е сутки, но снижалась к 60-м суткам постнатального развития по сравнению с контрольными значениями.

Обнаружена специфика влияния пренатального стресса на показатели цитокинового профиля крови у самцов и самок животных в разные периоды развития. Данное воздействие не влияет на уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10, но приводит к росту содержания провоспалительного ФНО- α в крови крыс на 60-е сутки жизни по сравнению с контролем. Показано, что стрессорная нагрузка у самцов нивелирует выявленное в норме возрастное уменьшение концентрации ФНО- α , а у самок сопровождается повышением его уровня от подсосного к инфантильному возрасту с наивысшим значением у

ювенильных особей. Существенно, что содержание этого цитокина на 60-е сутки жизни у пренатально стрессированных самок больше, чем у самцов.

Получены новые данные о том, что изменения характера взаимосвязей между показателями ноцицепции, цитокинового профиля крови и состояния иммунокомпетентных органов после внутриутробного стресса зависят от пола потомства и периода постнатального онтогенеза. Выявлено, что самцы крыс характеризуются отклонениями анализируемых физиологических параметров в ранние периоды жизни и реорганизацией связей между ними на относительно поздней стадии развития, а самки – более выраженными изменениями иммунологических показателей во взрослом возрасте.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты выполненной диссертационной работы могут найти применение в научно-исследовательской деятельности и практической медицине. Теоретическая значимость представленных данных заключается в расширении современных знаний о физиологических механизмах, опосредующих реализацию адаптационных процессов у млекопитающих после пренатального стресса. Получены экспериментальные доказательства наличия возрастных и половых особенностей изменения разных компонентов болевой чувствительности, взаимосвязанных с вариабельностью показателей иммунных функций – цитокинового профиля крови и состояния иммунокомпетентных органов – у млекопитающих после внутриутробной стрессорной нагрузки. Выявлена специфика взаимосвязей между иммунными и ноцицептивными параметрами у потомства женского и мужского пола на различных стадиях постнатального онтогенеза после материнского стресса в период беременности.

Полученные в исследовании данные включают в себя результаты комплексного анализа ноцицептивных и иммунологических показателей, в перспективе могут быть использованы в ходе разработки новых методов или подходов к предупреждению и коррекции нарушений после внутриутробного стресса. Материалы работы рекомендованы к рассмотрению и дальнейшему

включению в курс преподавания нормальной и патологической физиологии, иммунологии, неврологии, акушерства и гинекологии, педиатрии.

Изучаемые явления

1. Возрастные и половые особенности системной организации физиологических функций после пренатального стресса.
2. Перцептуальный и эмоциональный компоненты ноцицептивной чувствительности у крыс разного пола и возраста после внутриутробной стрессорной нагрузки.
3. Состояние иммунокомпетентных органов у потомства мужского и женского пола на разных стадиях постнатального онтогенеза после внутриутробной стрессорной нагрузки.
4. Концентрация цитокинов в сыворотке крови у самцов и самок крыс разных возрастных групп после внутриутробной стрессорной нагрузки.

Объект исследования

Опыты проведены в осенне-зимний период на 96 крысах Вистар – самцах и самках подсосного (21-е сутки жизни), инфантильного (30-е сутки жизни) и ювенильного возраста (60-е сутки жизни), полученных в результате разведения родительских особей (самцы, $n=12$; самки, $n=28$). Регистрацию изучаемых показателей проводили в заключительный день эксперимента в светлое время суток.

Методология и методы исследования

Исследование базируется на системном подходе к изучению особенностей регуляции физиологических функций у человека и животных (Анохин П.К., 1974; Судаков К.В., 2012) и проведено с использованием следующих методов:

1. Пренатальная стрессорная нагрузка на модели принудительного плавания самок в воде при температуре 10°C (Hamm R.J., Knisely J.S., 1987) в течение 5 минут с 10-го по 16-й день беременности.

2. Изучение ноцицептивной чувствительности крыс:

– перцептуальный компонент – измерение латентного периода реакции отведения хвоста в ответ на свето-термальное раздражение в тесте Tail-flick test (Le Bars D. *et al.*, 2001) на приборе Tail-Flick Analgesia Meter 0104-301V (*Columbus Instruments, USA*);

– эмоциональный компонент – определение порога вокализации в ответ на электрокожное раздражение хвоста (Козлов А.Ю. и др., 2015) с помощью электростимулятора SEN-3201 (*Nihon Kohden, Japan*).

3. Определение относительной массы иммунокомпетентных органов – тимуса и селезёнки – с помощью электронных лабораторных аналитических весов CAS CAUW-220D (CAS, Ю. Корея) и GR-202 (A&D Co., LTD, Japan).

4. Определение концентрации цитокинов – ФНО- α и ИЛ-10 – в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моно- и поликлональных антител (АО «Вектор-Бест», Россия) на установке НТИ ImmunoChem-2100 (*Microplate reader, США*).

5. Обработка полученных данных с помощью статистических и аналитических методов, выявление корреляционных взаимосвязей между изучаемыми показателями (Microsoft Office Excel 2019, STATISTICA 10.0).

Анализ экспериментальных результатов

Полученные числовые данные обработаны с помощью программ Microsoft Office Excel 2019 и STATISTICA 10.0. В связи с тем, что групповые выборки данных не подчинялись закону нормального распределения (критерий Шапиро-Уилка), для проведения статистического анализа применяли непараметрические методы – критерий Краскела-Уоллиса и *U*-критерий Манна-Уитни для независимых групп. Для проведения корреляционного анализа внутригрупповых связей между исследуемыми показателями использовали непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Используемые средства

1. Электронный микроскоп (БИОМЕД-5, увеличение $\times 10$, $\times 40$), набор предметных и покровных стёкол для цитологического исследования влагалищных мазков крыс.
2. Пластиковый резервуар (объём 20 л, диаметр 60 см) с водой для моделирования стрессорной нагрузки – принудительного плавания крыс.
3. Формы для приготовления льда и охлаждения воды до 10°C.
4. Термометр для измерения температуры воды.
5. Бумажные полотенца для высушивания крыс после плавания.
6. Пластиковые пеналы для иммобилизации животных: 16,5×5,5×7,0 см – для 21-дневных крысят; 23,5×6,5×7,0 см – для 30- и 60-дневных крыс.
7. Прибор Tail-Flick Analgesia Meter 0104-301V (*Columbus Instruments, USA*) для регистрации латентного периода реакции отведения хвоста крыс (сек) в ответ на свето-термальное раздражение.
8. Электростимулятор SEN-3201 (*Nihon Kohden, Japan*) и кольцевые медные электроды для регистрации порога вокализации крыс (мА) методом электрокожного раздражения хвоста.
9. Электродный контактный гель Уния гель (*ООО «Гельтек-Медика»*, Россия) для нанесения в область наложения электродов до подачи электрокожного раздражения.
10. Электронные весы (URM Astra 3, Китай) для измерения массы тела животных.
11. Электронные лабораторные аналитические весы CAS CAUW-220D (CAS, Ю. Корея) и GR-202 (*A&D Co., LTD, Japan*) для взвешивания иммунокомпетентных органов.
12. Настольная лабораторная центрифуга MULTI CENTRIFUGE FUGE CM 6M (*ELMI, Latvija*) для центрифугирования проб сыворотки крови.
13. Одноканальная автоматическая пипетка Eppendorf Reference 2 (100 – 1000 мкл) для сбора проб сыворотки крови.
14. Пробирка типа Эппендорф (Диа-м) для сбора проб сыворотки крови.

15. Иммуноферментный анализатор HTI ImmunoChem-2100 (*Microplate reader*, США) для измерения концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс методом твердофазного иммуноферментного анализа с наборами реагентов (АО «Вектор-Бест», Россия).

16. Программное обеспечение Microsoft Office Excel 2019 и STATISTICA 10.0 для обработки данных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Материнский стресс у крыс во время беременности оказывает специфическое воздействие на разные компоненты ноцицепции, показатели цитокинового профиля крови и состояние иммунокомпетентных органов у потомства.

2. Характер изменений ноцицептивных и иммунных параметров, вызванных внутриутробной стрессорной нагрузкой, зависит от периода постнатального онтогенеза и пола животных.

3. Изменения ряда изученных физиологических показателей и реорганизация взаимосвязей между ними после пренатального стресса у самцов и самок крыс наблюдаются на разных стадиях постнатального развития.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность полученных в диссертационном исследовании данных подтверждается применением современных методов и подходов, полностью соответствующих цели и задачам работы, а также достаточным количеством экспериментальных животных. Научные положения и выводы диссертации обоснованы представленными фактическими данными, которые наглядно проиллюстрированы на рисунках и в таблицах. Результаты обработаны с помощью соответствующих средств и методов статистического анализа.

Апробация результатов исследования

Основные научные положения и выводы диссертационной работы представлены на Научно-практической конференции ГОУ ТГМУ им. Абуали Ибни Сино с международным участием (69-я годовичная) «Достижения и проблемы фундаментальной науки и клинической медицины», посвящённой 30-летию Государственной независимости Республики Таджикистан и «Годам развития села, туризма и народных ремёсел (2019 – 2021)» (Душанбе, Таджикистан, 2021); Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов «Проблемы медицины и биологии» (Кемерово, 2021); Конференции молодых учёных «Актуальные проблемы биологии развития» (Москва, 2021); 79-й Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2021); Международной научно-практической конференции «Медицинская наука в эру цифровой трансформации» (Курск, 2021); XLVI Итоговой научной сессии НИИНФ им. П.К. Анохина «Системная организация физиологических функций» (Москва, 2021); XXV Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2022); Конференции молодых учёных и студентов, посвящённой 100-летию МГМСУ им. А.И. Евдокимова «Физиология и физика в современной медицине» (Москва, 2022); IV Междисциплинарной конференции с международным участием «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций», посвящённой 90-летию со дня рождения академика К.В. Судакова (Москва, 2022); Конференции с международным участием «Медицинская физика, физиология и смежные дисциплины в академической и вузовской науке», посвящённой 100-летию МГМСУ им. А.И. Евдокимова (Москва, 2022); XLVII Итоговой научной сессии НИИНФ им. П.К. Анохина «Системная организация физиологических функций» (Москва, 2023).

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 9 научных работ, отражающих основное содержание проведённого исследования: из них – 2 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ для защиты диссертаций (1 статья в журнале, индексируемом в базе данных Web of Science; 1 статья в журнале, индексируемом в базе данных RSCI).

Структура и объём работы

Диссертация изложена на 135 страницах печатного текста, проиллюстрирована 6 таблицами и 13 рисунками, включает в себя следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Список сокращений», «Список литературы». Список литературы содержит 225 источников, из них 153 отечественных и 72 зарубежных.

2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1. Общие особенности пренатального и постнатального развития крыс

Как известно, сохранение и поддержание здоровья человека – главная цель медицинской науки. Неоценимый вклад в достижение этой цели вносят исследования на лабораторных животных, результаты которых могут быть экстраполированы на человека. Изучению стадий индивидуального развития человека и крысы (Гуськова Т.А., 2003; Clancy B. *et al.*, 2001; Clancy B. *et al.*, 2007) и сопоставлению их возрастов посвящено много работ (Суханова Ю.А. и др., 2016; Котеров А.Н. и др., 2018; Sengupta P., 2013; Workman A.D. *et al.*, 2013).

А.В. Нагорный (1963) предложил в периодизации онтогенеза млекопитающих выделить два больших периода индивидуального развития: пренатальный и постнатальный.

Пренатальный период индивидуального развития организма – это время формирования органов и систем организма, определяющих становление механизмов приспособления к условиям постнатальной жизни (Николаева И.В., Белолобская Д.С., 2012).

Кратко рассмотрим особенности пренатального, внутриутробного или антенатального периода развития крыс. Пренатальное развитие крысы длится 21 – 23 дня (Ковалевский К.Л., 1944; Гелашвили О.А., 2008; De Almeida da Anunciação A.R. *et al.*, 2021).

В доимплантационный период или период прогестации (у крыс 3 – 5-е сутки внутриутробного развития) зигота делится и развивается до стадии бластоцисты, мигрирует к месту имплантации зародыша (Адайбаев Т.А. и др., 2020). Переходным этапом между двумя периодами является имплантация зародыша (7-е сутки) в слизистую оболочку матки (Трипольская Н.А., 1967). В период гестации зародыш прикреплен к матке с помощью плаценты. С началом органогенеза происходит формирование зачатков органов (Соколова Н.А. и др., 2016).

В пренатальном развитии животных и человека выделяют периоды наибольшей чувствительности зародыша к действию внешних факторов, так называемые критические периоды развития (Токин Б.П., 1987; Тельцов Л.П. и др., 2008). В высшей точке критического периода происходит детерминация основного комплекса осевых органов, а именно процессов, ведущих зачаток к состоянию, которое рассматривается как конечное. Чувствительность к воздействию внешних факторов в этой фазе возрастает; это выражается в том, что при действии на зародыш любым фактором развитие органа или системы идёт неправильно (Светлов П.Г., 1978).

По мнению И.Н. Лебедева (2011), теория критических периодов получила развитие и всестороннее обоснование в работах П.Г. Светлова, опубликованных ещё в 1960 и 1978 гг. Им установлены два критических периода в развитии зародыша у плацентарных: первый совпадает с процессом имплантации зародыша, второй – с формированием плаценты (плацентацией). У млекопитающих имплантация совпадает с первой фазой гастрюляции, а второй, более длительный период имплантации одновременно охватывает вторую фазу гастрюляции и нейруляцию, а также начальные этапы органогенеза.

Критические периоды в формировании разных органов не совпадают друг с другом, а появление частных критических периодов наибольшей чувствительности происходит с последовательно появляющимися закладками различных органов (Светлов П.Г., 1978).

После завершения имплантации в развитии эмбриона начинается период органогенеза и плацентации (Кирющенко А.П., 1978). Следующий критический период – период раннего органогенеза (у крыс он охватывает 9 – 10-й дни беременности; Соколова Н.А., 2016). В этот период, в первую очередь, наиболее чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов те органы и системы, которые находятся в процессе дифференцировки и повышенного обмена веществ (Кирющенко А.П., 1978). Влияние стрессоров на организм матери в этот момент увеличивает частоту неблагоприятных исходов беременности, вероятность рождения мертворождённых или гибели крысят в раннем постнатальном периоде.

Кроме того, данные воздействия также могут приводить к рождению маловесного потомства, задержке созревания функций ЦНС (Соколова Н.А. и др., 2016).

Плацентацию также на полном основании можно отнести к критическому периоду развития (Кирющенков А.П., 1978). При выраженной недостаточности функции плаценты происходит снижение продукции плацентарного гонадотропина, лактогена, прогестерона и эстрогенов, беременность может закончиться внутриутробной гибелью. На ранних стадиях онтогенеза у зародыша отсутствуют специфические реакции на действие патогенных факторов, поэтому стрессорные факторы приводят к торможению и остановке развития.

Понятие «критические периоды», о которых было сказано ранее, также переносится и на постнатальное развитие млекопитающих (Аршавский И.А., 1982).

Постнатальный онтогенез млекопитающих принято разделять на периоды согласно классификации, основанной на возрастных особенностях развития организма (Западнюк И.П. и др., 1983; Гуськова Т.А., 2003). Данной классификации придерживаются и современные исследователи (Воробьева О.Б., 2005; Буткевич И.П., 2007; Никитина Ю.В., Мухина И.В., 2009; Абрашова Т.В. и др., 2013; Суханова Ю.А. и др., 2016). В соответствии с ней, в постнатальном развитии животных выделено четыре периода, каждый из которых разделён на несколько возрастов:

1. период молочного кормления: новорождённый (новорождённые животные, 1 – 5 сутки) и подсосный (сосуны, 6 – 21 сутки);
2. период полового созревания: неполовозрелый или инфантильный (инфантильные животные, 22 – 50 сутки) и предслучный или ювенильный (ювенильные животные, 51 – 120 сутки);
3. репродуктивный период: молодой (молодые животные, 5 – 10 месяц), зрелый (взрослые животные, 11 – 18 месяц);

4. период выраженных старческих изменений: предстарческий (предстарые животные, 19 – 23 месяц), старческий (старые животные, 24 – 30 месяц), предельно старческий (предельно старые животные, 30 – 40 месяц).

Далее мы кратко рассмотрим ключевые события постнатального периода развития, которые происходят у крыс в изучаемых нами возрастных группах.

Крысята рождаются незрелыми, поэтому не могут выполнять специфические и сложные двигательные, сенсорные и когнитивные поведенческие задачи (Nguyen A.T. *et al.*, 2017).

У крыс подсосного возраста появляется пигментация кожи и шерстяной покров, открываются глаза, уши (Западнюк И.П. и др., 1983). Начинают функционировать дистантные рецепторы. Реализуется поза стояния, и животные уже передвигаются по гнезду. У крысят на 20 – 30-й день появляются клыки. На 21-й день крысят отсаживают от матери (Абрашова Т.В. и др., 2013), происходит переход крысёнка на дефинитивное питание. Этот возраст характеризуется повторным ростом интенсивности эритропоэза с образованием эритроцитов, практически не отличающихся по морфометрическим параметрам от эритроцитов взрослых животных. На 22-й день жизни завершается процесс созревания вегетативной системы регуляции, появляется способность к запоминанию экспериментальной обстановки. При нормальном течении постнатального развития у животных данного возраста регистрируется умеренное увеличение содержания в коре больших полушарий дофамина, норадреналина и серотонина, а в стволовых структурах – норадреналина и серотонина (Соколова Н.А. и др., 2016).

Неполовозрелые (инфантильные) крысята уже не требуют ухода матери (Западнюк И.П. и др., 1983). У них совершенствуются двигательные акты, намечается дифференциация вторичных половых признаков, самцы становятся крупнее самок. Половое созревание характеризуется высокой функциональной активностью иммунной системы (Симонова Е.Ю., 2013).

У ювенильных особей хорошо выражены вторичные половые признаки (Западнюк И.П. и др., 1983), появляется половая охота. Самцы становятся

половозрелыми на 40-й день жизни, самки позже; однако половые различия наиболее выражены с 55-го дня (Сахаров П.П., 1937).

2.2. Ноцицептивная система крыс. Половые и возрастные особенности болевой чувствительности

На рубеже XIX – XX веков на основе накопленных человечеством знаний о причинах и механизмах возникновения боли сформировались первые научно-обоснованные теории происхождения боли. С.С. Перцов с соавт. (2021) в своей работе пишут, что согласно современной теории боли данный феномен возникает вследствие превалирования активности ноцицептивной системы над постоянно функционирующей в здоровом организме антиноцицептивной системой.

Слово «ноцицепция» происходит от латинских слов *nocere*, что означает «вредить», и *capere* – «брать», «взять» или «принимать». Данным термином британский физиолог Ч.С. Шёррингтон в 1900 г. разграничил физиологическую природу боли, то есть ответ нервной системы на повреждение тканей организма, и психологическую субъективную реакцию на физиологическую боль (Касенов Б.Ж., Измайлова С.Х., 2020).

Ноцицепция – это нейрофизиологическое понятие, обозначающее физиологический механизм восприятия, передачи и обработки сигналов, поступающих на сенсорные рецепторы боли (ноцицепторы), запрограммированные на восприятие различных повреждающих стимулов (Кукушкин М.Л., Хитров Н.К., 2004).

Болевая (ноцицептивная) реакция, возникающая вследствие повреждения структур, включает в себя следующие семь компонентов: поведенческий, эмоциональный, перцептуальный, двигательный, когнитивный, вегетативный и иммунный (Абрамова А.Ю., Перцов С.С., 2017).

Поведенческий компонент отражает действия, направленные на устранение и/или избегание вредоносного воздействия (Абрамова А.Ю., Перцов С.С., 2017). Эмоциональный компонент иллюстрирует психоэмоциональную реакцию на повреждение. Перцептуальный компонент – это собственно ощущение боли,

которое возникает на основе полученных ноцицепторами сигналов путём передачи их по нервным волокнам в ЦНС. Двигательный компонент направлен на устранение действия повреждающих агентов, когнитивный – участвует в формировании личностного отношения к боли на основе полученного ранее опыта. Вегетативный компонент болевой реакции связан с усилением работы симпатoadреналовой системы. Иммунный компонент ноцицепции отражает наличие взаимосвязей между реакциями иммунной и ноцицептивной систем на повреждение ткани.

В механизмах предупреждения и ликвидации боли большую роль играет и система, обеспечивающая обезболивание, – антиноцицептивная система (Морозов А.М. и др., 2020). Она включается в ноцицептивную реакцию и ослабляет восходящий поток импульсов, тем самым снижая силу болевого ощущения. Так организму удаётся контролировать интенсивность восприятия боли.

Боль, как звено функциональной системы организма, согласно теории функциональных систем П.К. Анохина, является полезным приспособительным результатом, который служит основой работы биологических систем организма: осуществляет саморегуляцию и поддерживает гомеостаз (Калюжный Л.В., 1984). Как биологическая потребность, она формирует перцептуально-мотивационный компонент функциональной системы, которая контролирует два важных полезных приспособительных результата или жизненно важные константы организма: целостность покровных оболочек, обеспечивающих изолированность от внешнего мира и поддержание постоянства внутренней среды, и уровень кислородного дыхания тканей, необходимый для нормальной жизнедеятельности.

Международная ассоциация по изучению боли (IASP) впервые в 1979 г. сформулировала определение боли, которое со временем претерпело некоторые изменения и сегодня звучит так: боль – это неприятное сенсорное и эмоциональное переживание, связанное или напоминающее то, что обусловлено фактическим или потенциальным повреждением тканей (IASP Taxonomy).

Современные физиологи рассматривают боль как многокомпонентную интегративную реакцию организма на повреждение ткани (Абрамова А.Ю., Перцов С.С., 2017).

Восприятие и переживание боли у мужчин и женщин разное. Одной из причин данных различий могут быть ожидания, связанные с болью и присущие людям (Keogh E., Denford S., 2009).

Т.В. Балашова с соавт. (2013) в обзорной статье, посвящённой этимологии и половым особенностям восприятия боли, приводят следующие примеры. Исследование новорождённых показало, что девочки характеризуются более выраженной мимической реакцией в ответ на болевое раздражение, чем мальчики; женщины проявляют умение сдержанного переживания ощущения боли, тогда как мужчины демонстрируют более выраженную аффективную реакцию при сильной боли. Также автор пишет о том, что мужчины подвержены гормональным изменениям, однако эти изменения менее значительны и более постепенны, чем у женщин. Женщины хуже переносят боль, что отражается в изменении уровней нейромедиаторов, таких как эндорфин, серотонин, дофамин, значения которых превышали аналогичные у мужчин. Этот факт свидетельствует о более напряжённой работе антиноцицептивных систем. В исследованиях на крысах показано, что на уровне спинного мозга половой диморфизм проявляется в антиноцицептивном действии агонистов опиоидных рецепторов: системное и внутримозговое введение большинства указанных веществ приводит к более выраженному антиноцицептивному эффекту у самцов, нежели у самок крыс.

Л.Р. Ахмадеева с соавт. (2013) выяснили, что болевая чувствительность зависит от пола, но не от типа темперамента или возраста. Проведённое ими исследование порога восприятия механического стимула (сдавливания), как болевого, продемонстрировало, что женщины воспринимают это воздействие как боль быстрее, чем мужчины. Следовательно, испытуемые женщины имеют более низкий порог восприятия.

А.Б. Данилов и Р.Р. Ильясов (2015) указывают, что степень болевых синдромов зависит от нарушения баланса половых гормонов.

Согласно другим источникам, не только пол, но и возраст влияет на восприятие боли (Морозов А.М., 2020).

Долгое время, вплоть до 1980 г. существовало заблуждение о том, что новорождённые не испытывают боли (Maxwell L.G. *et al.*, 2019). Дальнейшие исследования изменили представления о боли у новорождённых (Porter F.L. *et al.*, 1999). Доказано, что новорождённые не только испытывают боль, но и наиболее чувствительны к болевым раздражителям вследствие незрелости нервной системы (Perry M. *et al.*, 2018).

В обзоре литературы F.L. Porter с соавт. (1999) показано, что как у новорождённых, так и у недоношенных детей болевое и стрессорное воздействие вызывает физиологический и поведенческий ответ. В критические периоды раннего постнатального развития нервная система новорождённого пластична и восприимчива к действию факторов среды. Авторы отмечают, что у новорождённых крысят более низкие пороги и усиленные поведенческие реакции на механические, термические и воспалительные ноцицептивные раздражители по сравнению с детёнышами старшего возраста и взрослыми животными. С возрастом происходило снижение интенсивности и продолжительности болевого ответа.

Н.В. Коротаева с соавт. (2019) опубликовали данные о том, что у новорождённых детей периферические ноцицепторы реагируют на действие раздражающих факторов, а система восприятия боли функционирует. Однако реакции на болевые стимулы у новорождённых отличаются от таковых у взрослого человека.

В работе М. Perry с соавт. (2018) обнаружено, что кортикальное восприятие болевого импульса развивается после 24-й недели беременности, в то время, когда завершается соединение таламического пути с дорсальным рогом (Maxwell L.G. *et al.*, 2019). Механизмы модуляции боли, по данным этих же авторов, более характерны для взрослых, чем для новорождённых, и именно по этой причине у недоношенных детей болевой порог может быть ниже, чем у взрослых.

К особенностям болевой реакции у новорождённых относят гипералгезию (Ахмадеева Э.Н., Hansen T.W.R., 2011). Боль у новорождённых вызывает выраженный целостный ответ всего организма. При этом болевые реакции делят на поведенческие, физиологические, нейроэндокринные и обменные.

К физиологическим проявлениям боли новорождённых относят: изменение частоты и механики дыхания, колебания частоты и ритма сердечных сокращений, повышение артериального давления, снижение PO_2 и повышение PCO_2 в крови, уменьшение сатурации крови и тканей, неустойчивая температура тела, напряжение большого родничка, метеоризм, потливость ладоней, бледность или пятнистость кожи, расширение зрачков (Коротаева Н.В. и др., 2019).

К нейроэндокринным и обменным болевым реакциям у новорождённых относятся: усиление синтеза и высвобождения катехоламинов, эндорфинов, глюкокортикоидов, глюкагона и кортизола, снижение секреции инсулина и тиреоидного гормона; увеличение активности ренина плазмы; гипергликемия; метаболический ацидоз; катаболическая направленность обмена веществ, отрицательный азотистый обмен, отсутствие прибавки массы тела (Ахмадеева Э.Н., Hansen T.W.R., 2011).

С. McPherson с соавт. (2020) отмечают, что боль в неонатальном периоде развития оказывает долгосрочное воздействие на развивающийся мозг. У недоношенных детей болевые ощущения в этот период авторы связывают с нарушениями созревания мозга, утончённой корой в лобной и теменной долях, низкой функциональной анизотропией белого вещества, сохраняющейся вплоть до наступления школьного возраста.

Следует отметить, что к настоящему времени разработано множество шкал с различной валидностью и надёжностью по оценке боли у человека (Giordano V. *et al.*, 2019; McPherson C. *et al.*, 2021).

Эксперименты В.В. Алексеева (2021) показали, что у новорождённых белых беспородных 3 – 4-дневных крысят в механизме формирования острой соматической боли превалирует активация кислородзависимой микробицидности

нейтрофилов крови и дефензинов- α . У прозревших животных (12 – 15-е дни жизни) формирование острой соматической боли характеризуется краткосрочной, слабовыраженной активацией кислородзависимой микробицидности нейтрофилов, выраженным увеличением содержания дефензинов- α и С-реактивного белка в крови.

У крыс месячного возраста (30 – 35-е сутки жизни), так же, как и у взрослых животных (2 – 5 месячные), в формирование острой соматической боли вовлекаются все изученные факторы врождённого иммунитета, а именно: активность лизоцима, СРБ, С3 компонент комплимента, фагоцитарная активность нейтрофилов и уровень дефензинов- α . Колебания активности лизоцима, содержания дефензинов- α в периферической крови и кислородзависимой микробицидности нейтрофилов у месячных животных носят двухфазный характер.

Расширение диапазона реагирования изученных факторов врождённого иммунитета наступает по мере взросления животных. На ранних этапах онтогенеза превалируют лишь клеточные механизмы защиты, которые в последующем подкрепляются гуморальными.

2.3. Общие особенности компонентов иммунной системы крыс

Иммунная (лимфоидная) система – важнейшая система организма, изучение которой продолжается и по сей день. Исходя из главной функции – поддержания постоянства внутренней среды организма за счёт сохранения антигенного постоянства клеток и тканей в течение всей жизни, её базовые механизмы функционирования сводятся к распознаванию и уничтожению / элиминации генетически чужеродной информации, а также сохранению способности к более интенсивному ответу при повторном контакте с антигеном (иммунологическая память) (Петров Р.В. и др., 2017). Изменения дегенеративного, инволюционного характера, а также воспалительные процессы с поражением вилочковой железы,

костного мозга, лимфоузлов и селезёнки влекут за собой неполноценность всей иммунной системы (Газизова А.И., Ахметжанова Н.Б., 2018).

Развитие иммунной системы у млекопитающих начинается ещё во внутриутробном периоде развития (Кузнецов А.П., 2015).

У белой крысы, как и у человека, формирование лимфоидной системы происходит от центральных (первичных) органов к периферическим (вторичным) (Петренко В.М., 2013). Раньше всего происходит закладка вилочковой железы и селезёнки (13 – 14 сутки внутриутробного развития; Сарсен А.А. и др., 2020).

Лимфоидные органы у крыс начинают функционировать с 13-х суток внутриутробного периода развития (Адайбаев Т.А. и др., 2020).

Далее мы более подробно опишем физиологические особенности некоторых органов иммунной системы. Поскольку без знаний морфологии нельзя судить о функциональных механизмах, мы частично рассмотрим её в совокупности с ключевыми аспектами онтогенеза (Газизова А.И., Ахметжанова Н.Б., 2018).

2.3.1. Иммунокомпетентные органы: тимус и селезёнка

Тимус

Тимус, или вилочковая железа, является крупным первичным лимфоидным органом, в котором происходит созревание и дифференцировка Т-лимфоцитов, или тимопоэз (Кулеш В.С., 2022).

В тимусе синтезируется ряд нейроэндокринно-иммунных сигнальных молекул (гормоны тимуса, биогенные амины, пептидные гормоны APUD-клеток, лимфоцитов и клеток микроокружения), лимфокины, нейропептиды (нейротензин, субстанция Р, ВИП, холецистокинин, соматостатин, окситоцин, вазопрессин, нейротензины, метэнкефалин, АКТГ, предсердный натрийуретический пептид) (Толстова Е.М., Зайцева О.В., 2018).

Следует отметить также взаимодействия между системами и железами внутренней секреции, реализуемые в организме. В работе Е.М. Толстой и О.В. Зайцевой (2018) описана стимуляция секреции тимулина щитовидной железой и

гипофизом. Предполагается наличие связи между снижением тимической секреции и изменением уровней половых гормонов, поступающих в кровоток в период полового созревания.

У потомства белых крыс можно выделить 4 этапа становления микроанатомической организации вилочковой железы: I этап – 13 – 16-е сутки пренатального периода; II этап – 17 – 21-е сутки пренатального периода; III этап – 1 – 4-е сутки постнатального периода; IV этап – 5 – 7-е сутки постнатального периода (Адайбаев Т.А. и др., 2020). Для каждого из этапов характерны определённые изменения в строении вилочковой железы.

Энтодермальная закладка тимуса у грызунов выявляется на 10-е сутки эмбрионального развития (Цомартова Э.С., 2020; Пивченко П.Г., Пасюк А.А., 2006). На 15-е сутки внутриутробного развития у эмбрионов обнаруживаются первые сосуды тимуса (Пасюк А.А., Пивченко П.Г., 2006). На 16-е сутки появляются сосуды, которые подходят к краниальному и каудальному полюсам долей тимуса. На 17-й день кровеносное русло тимуса имеет окончательное строение. Первый период ускоренного роста долей тимуса приходится на 16 – 17-е (Пасюк А.А., 2018), а артерий тимуса – с 16-х по 18-е сутки эмбриогенеза (Пасюк А.А., Пивченко П.Г., 2006). Образование долек тимуса белой крысы происходит на 17 – 19-е сутки (Петренко В.М., 2013). Формирование вторичных долек тимуса отмечено на 18-е сутки, когда наблюдается разделение коркового и мозгового вещества тимуса. К 20-м суткам эмбриогенеза тимус по внешним признакам имеет окончательное строение: две соприкасающиеся медиальные поверхности, пирамидальные доли, окружённые общей капсулой (Пивченко П.Г., Пасюк А.А., 2006). У новорождённых крысят 1 – 4-х суток жизни продолжается формирование долек и образование междольковых перегородок (Адайбаев Т.А. и др., 2020).

На протяжении пренатального онтогенеза тимуса крысы происходит волнообразная динамика изменений морфометрических показателей (длина, ширина, объём, толщина) с двумя периодами ускоренного роста: на 16 – 17-е сутки (значительно увеличивается количество лимфоцитов, формируются дольки

тимуса) и на 21-е сутки (Пасюк А.А., 2018). Первый ускоренный рост длины долей тимуса приходится на 16-е, 18-е и 20-е сутки, ширины – на 16-е, 21-е, 22-е сутки эмбриогенеза; период замедленного роста – на 17-е и 19-е сутки (Пивченко П.Г., Пасюк А.А., 2006). Первый период интенсивного роста артерий приходится на период с 16-го по 18-й день эмбриогенеза, а второй – начиная с 20-го дня внутриутробного развития и до рождения (Пасюк А.А., Пивченко П.Г., 2006). Третий период ускоренного роста долей вилочковой железы приходится на 1 – 3-ю недели постнатального развития. Следовательно, в указанные периоды развития вилочковая железа имеет повышенную чувствительность к воздействию неблагоприятных факторов. Это связано с тем, что крысы рождаются незрелыми, как уже было отмечено ранее (Пасюк А.А., 2018).

Постнатальный морфогенез тимуса мышей и крыс включает два этапа: до полового созревания (6 недель) и после него (Цомартова Э.С., 2020).

У новорождённых крысят вилочковая железа относительно большая, но к моменту полового созревания она достигает максимального размера; затем с возрастом её размер уменьшается (Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., 2001).

В постнатальном онтогенезе белой крысы изменения долей тимуса имеют волнообразный характер: первый период ускоренного роста – первые 2 – 3 недели развития, а второй период – 2-й месяц развития (Пасюк А.А., 2017). На протяжении 3 – 4-го месяцев наблюдается период замедленного роста, который связан с половым созреванием белой крысы. Третий период интенсивного роста соответствует 5-му месяцу развития.

С 6-го месяца у белой крысы наблюдается возрастная инволюция, ускоряющаяся на 2-м году жизни (Пасюк А.А., 2017). Указанный процесс происходит преимущественно за счёт уменьшения ширины долей органа. При этом происходит снижение продукции Т-лимфоцитов, уменьшение объёма лимфоидной ткани, которая замещается жировой тканью (Кулеш В.С., 2022). В то же время, объём коркового вещества уменьшается быстрее, чем мозгового. С возрастом уменьшается и число клеток-предшественников Т-лимфоцитов в красном костном мозге (Feng J.H. *et al.*, 2021). Однако несмотря на то, что

активность пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов с возрастом снижается, вилочковая железа обеспечивает созревание и миграцию тимоцитов к периферическим органам иммунной системы в течение всей жизни (Жылкичиева Ч.С. и др., 2017; Толстова Е.М., Зайцева О.В., 2018).

Селезёнка

Селезёнка – это периферический, непарный, сегментированный, лимфоидный орган иммунной системы, который принимает участие в формировании иммунного ответа (Хасанов Б.Б., 2022). Каждый её сегмент включает белую и красную пульпу.

В селезёнке происходят процессы дальнейшей дифференцировки субпопуляции лимфоцитов и клеток системы мононуклеарных фагоцитов, их взаимодействие при иммунных реакциях с другими активизированными иммунокомпетентными клетками (Хасанов Б.Б., 2022).

Селезёнка также выполняет функцию «фильтра крови» в организме, что связано с изменениями микроструктуры и цитоархитектоники в ответ на циркулирующие антигены и повреждённые клетки (Хасанов Б.Б., 2022). Лимфоциты селезёнки, как лимфоидного органа, распознают находящиеся в крови антигены, что вносит вклад в реализацию соответствующих иммунных реакций (Кузнецов А.П. и др., 2015).

Большую роль в функционировании селезёнки играют макрофаги: от элиминации старых форменных элементов крови до активного участия в иммунных реакциях (Хасанов Б.Б., 2022). Макрофаги отличаются друг от друга по происхождению и функциональным особенностям. Характерным признаком для клеток системы мононуклеарных фагоцитов, к которым относятся макрофаги, является то, что они развиваются из моноцитов костного мозга, способны к фагоцитозу и представлению антигенов Т- и В-лимфоцитам, продуцированию ряда биологически активных веществ. В процессе иммунного ответа они, элиминируя и разрушая антиген, выводят его остатки на поверхность в виде

суперантигена, взаимодействуют с Т- и В-лимфоцитами, создают микроокружение для этих клеток.

Селезёнка 21-суточных плодов крыс структурно незрелая, однако, на данном этапе развития она уже выполняет функцию кроветворения (Сарыева О.П., 2006).

В исследованиях, проведённых на основе анализа гистологических препаратов млекопитающих, установлено, что строение лимфоидных образований в селезёнке с возрастом значительно изменяется. В пределах одного возрастного периода может происходить значительная структурная перестройка, что проявляется в интенсивном развитии лимфоидной ткани в селезёнке (Газизова А.И., Ахметжанова Н.Б., 2018).

В раннем постнатальном онтогенезе иммуноархитектоника селезёнки крыс подвергается быстрой возрастной перестройке, что свидетельствует о выраженных сдвигах в организме на уровне периферического звена органов иммуногенеза в данный возрастной период (Капитонова М.Ю. и др., 2007). У крыс подсосного возраста отмечаются признаки интенсивного роста и морфофункционального развития органа, а к завершению этого периода (на 21-е сутки) происходит качественное преобразование паренхимы селезёнки, что служит признаком наступления функциональной зрелости её иммунного аппарата (Кащенко С.А. и др., 2013).

В развитии селезёнки, как и тимуса, с возрастом отмечаются инволютивные изменения (Бобрышева И.В., 2015).

2.3.2. Цитокины

Термин «цитокины» был предложен в 1974 г. N. Cohen и обозначал биологически активные вещества, вырабатываемые клетками иммунной системы и регулирующие её работу (Кадагидзе З.Г., 2003). Впоследствии представления о цитокинах были расширены и дополнены.

Как отмечено Д.С. Сташкевичем с соавт. (2016), физиологическая роль цитокинов заключается в регуляции эмбриогенеза, закладки и развитии органов

иммунной системы; контроле нормальных физиологических функций; модуляции защитных реакций организма на местном и системном уровнях, процессов регенерации повреждённых тканей.

Цитокины являются сигнальными молекулами иммунной системы. Это эндогенные полипептидные медиаторы межклеточного взаимодействия, регулирующие развитие и физиологические функции организма, а также поддержание гомеостаза (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008). К ним относят интерфероны, интерлейкины, факторы роста, хемокины, медиаторы из группы фактора некроза опухолей и другие молекулы.

С.А. Кетлинский и А.С. Симбирцев (2008) выделяют следующие характерные особенности цитокинов: плеiotропность и взаимозаменяемость биологического действия, отсутствие антигенной специфичности, проведение сигнала путём взаимодействия со специфическими клеточными рецепторами, формирование цитокиновой сети.

Цитокины участвуют преимущественно в формировании и регуляции защитных реакций организма при внедрении патогенов и нарушении целостности тканей, а также в контроле нормальных физиологических функций.

Начиная с 20 – 30-х гг. XX века и по сегодняшний день, исследования роли цитокинов в реализации защитных реакций организма внесли весомый вклад в развитие современной иммунологии (Сташкевич Д.С. и др., 2016).

Цитокины продуцируются активированными Т- и В-лимфоцитами, макрофагами и клетками не-иммунной системы, такими, как фолликулярно-звёздчатые клетки гипофиза (ИЛ-6), эндотелиальные и синовиальные клетки, хондроциты и др. (Трошина Е.А., 2021).

Существует множество классификаций цитокинов, в том числе, по строению, характеру действия, биологическим и биохимическим свойствам (Сташкевич Д.С. и др., 2016; Рабинович О.Ф. и др., 2019).

По структурным особенностям и механизму действия цитокины подразделяют на следующие (Рабинович О.Ф. и др., 2019):

1. регулирующие воспалительные реакции – провоспалительные (ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8), противовоспалительные (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-27, ИЛ-37) и обладающие про- и противовоспалительными свойствами;
2. регулирующие клеточный иммунитет (ИЛ-1, ИЛ-12, ФНО- γ и др.);
3. регулирующие гуморальный иммунитет (ИЛ-4, ИЛ-5, ФНО- β и др.).

Поскольку исключительно по какому-либо одному признаку сложно классифицировать цитокины – одна молекула может иметь более одной функции и продуцироваться в разных клетках – предложено объединить цитокины в семейства на основе их биологических функций (Еричев В.П. и др., 2017). Далее рассмотрим характеристику цитокинов и их семейств, которые были изучены в нашем исследовании.

Фактор некроза опухоли (ФНО, TNF) получил своё название благодаря способности вызывать геморрагический некроз некоторых опухолей у экспериментальных животных (Кадагидзе З.Г., 2003). Семейство цитокинов фактора некроза опухолей, согласно структурно-функциональной классификации, включает в себя ФНО, лимфотоксины (LT) α и β , Fas-лиганд, мембранные молекулы CD40 и CD30, Р-75 рецептор нейтрофина, ФНО-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд (TRAIL) и др. Продуцируют эту группу биологически активных веществ активированные мононуклеарные фагоциты, эндотелиальные клетки, антиген-стимулированные Т-клетки (CD4⁺ и CD8⁺) и активированные NK-клетки.

Основные функции цитокинов этого семейства включают в себя следующие: провоспалительное действие; регуляция апоптоза и межклеточного взаимодействия иммунокомпетентных клеток; стимуляция продукции ИЛ-1, ИЛ-6 и самого ФНО; стимуляция процессов адгезии; антителообразование В-клетками; индукция колониобразующих факторов эндотелиальными клетками и фибробластами; ко-стимуляция Т-клеточной активации и NK-клеток (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008).

Фактор некроза опухоли альфа (TNF- α , ФНО- α) участвует в иммунорегуляции, развитии воспаления и гемодинамических нарушениях при заболеваниях разной этиологии (Цветикова Л.Н. и др., 2015). Также установлено, что развитие воспаления, нарушений сердечно-сосудистой и нервной систем сопряжено с индукцией апоптоза, вызванного активацией ФНО- α каспазы-3 и каспазы-8.

ФНО- α синтезируется Т- и В-лимфоцитами, нейтрофилами и макрофагами. Это один из основных индукторов воспалительного ответа (Зинина Е.П. и др., 2021). Подавляя эритро-, миело- и лимфопоэз, указанный цитокин влияет на кроветворение, причём его стимулирующее действие проявляется на фоне снижения интенсивности данного процесса (Кадагидзе З.Г., 2003). ФНО- α усиливает воспаление, вызывает лихорадку и активирует повреждение клетки (Кузнецов А.П. и др., 2015). В малых дозах он является важным физиологическим регулятором воспаления и необходим для нормального протекания защитных реакций при внедрении патогенов (Симбирцев А.С., 2011). В высоких концентрациях ФНО- α выполняет роль медиатора патологического воспаления, развития системной воспалительной реакции, повреждения органов и септического шока.

Семейство интерлейкина-10 включает в себя несколько схожих по структуре полипептидов, однако, несмотря на общность строения, ни один из представителей этой группы не повторяет полностью биологические свойства самого ИЛ-10 (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008). Все представители этого семейства вовлечены в регуляцию воспаления и имеют свои особенности действия и экспрессии в разных клетках-продуцентах.

ИЛ-10 – ключевой регулятор иммунного ответа. Его вырабатывают Т-хелперы 1-го типа (Th-1), В-клетки, макрофаги, кератоциты, моноциты, цитотоксические клетки (Кадагидзе З.Г., 2003). ИЛ-10 синтезируется активными CD4⁺ (клонами Th-0, Th-1, Th-2) и CD8⁺ Т-лимфоцитами, активированными В-лимфоцитами и клетками В-клеточных лимфом, тучными клетками и

активированными липополисахаридом моноцитами / макрофагами (Каштальян О.А., Ушакова Л.Ю., 2017). Синтез ИЛ-10 подавляется ИЛ-4.

ИЛ-10 выполняет функцию иммуносупрессора, подавляет продукцию провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО), пролиферацию Т-клеток, развитие гиперчувствительности замедленного типа. Этот цитокин снижает активность макрофагов и моноцитов, стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов и синтез IgM и IgA, пролиферацию тимоцитов, активирует НК-клетки, увеличивая их цитотоксичность (Каштальян О.А., Ушакова Л.Ю., 2017). ИЛ-10 также подавляет активацию Th-1 (Кузнецов А.П. и др., 2015). Противовоспалительное и иммуносупрессивное действие ИЛ-10 связано с подавлением функциональной активности антиген-представляющих клеток и снижением секреции провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО) макрофагами и дендритными клетками, а также иммунорегуляторных цитокинов клонами Т-лимфоцитов-хелперов (Симбирцев А.С., 2011). Биологическая роль ИЛ-10 главным образом заключается в ограничении развития реакций врождённого и приобретённого противоинфекционного иммунитета, способных вызвать повреждение тканей.

Цитокины в онтогенезе

Согласно современным представлениям о физиологическом течении беременности, этот период сопровождается формированием цитокин-опосредованной иммуносупрессии, обусловленной изменением цитокинового баланса в организме матери на уровне клеток Т-хелперов (Th) (Каштальян О.А., Ушакова Л.Ю., 2017). Для защиты плода от возможной атаки клеточного иммунитета матери, внутриматочное окружение во время беременности претерпевает переход от Th-1 к Th-2 клеткам (Гудошников В.И., 2016).

Ранний пренатальный период после оплодотворения характеризуется временной воспалительной реакцией эндометрия, которая сопровождается повышением экспрессии провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α) (Каштальян О.А., Ушакова Л.Ю., 2017). Это необходимо для прикрепления и

имплантации эмбриона, находящегося на стадии бластоцисты. Цитокины, которые синтезируются клеткам плаценты, участвуют в регуляции нормального развития плода, а в дальнейшем – в формировании врождённого и приобретённого иммунитета. Известно, что спектр цитокинов, синтезируемых клетками трофобласта, достаточно широк. Децидуальные макрофаги спонтанно синтезируют большие количества ФНО- α и ИЛ-10. В первом триместре беременности в плаценте происходит экспрессия генов ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, IFN- γ . Предполагается, что это необходимо для нормального формирования цитокиновой сети плода, участвующей в его защите и регуляции иммунитета.

Цитокины также регулируют наступление родов, до начала которых происходит инфильтрация плаценты и окружающих материнских тканей разными типами лейкоцитов (Каштальян О.А., Ушакова Л.Ю., 2017). В результате эти клетки начинают синтезировать провоспалительные цитокины семейства ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α . Недостаток ИЛ-10 может стать причиной преждевременных родов из-за снижения контроля над продукцией провоспалительных цитокинов. Нарушение баланса цитокинов в организме матери, в частности, преобладание продукции Th-1 цитокинов мононуклеарами периферической крови, может привести к гестозам (Павлов О.В., Сельков С.А., 2004). Это состояние сопровождается возрастанием уровня ФНО- α и ИЛ-6 в плазме крови и увеличением синтеза ИЛ-6 моноцитами.

Аналогичные закономерности выявляются и после рождения ребёнка, однако, позже устанавливается равновесие между активностью разных типов клеток (Th-1 и Th-2), что необходимо для защиты нового организма (Гудошников В.И., 2016). Если такое равновесие не устанавливается, то развивающийся организм в будущем будет более предрасположен к различным болезням (аутоиммунным и аллергическим). Подобный переход от Th-1 к Th-2 наблюдается вновь в старости, что проявляется в ослаблении иммунной системы. Состояния ослабления иммунитета частично связывают с физиологической инволюцией тимуса, которая происходит после полового созревания, а также с замещением большей части костного мозга и тимуса жировой тканью в старости.

Как было сказано ранее, начиная с самых ранних этапов пренатального развития, цитокины участвуют в межклеточном взаимодействии, а именно в регуляции эмбриогенеза, закладки и развития органов иммунной системы плода (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008). Экспрессия генов некоторых цитокинов происходит на определённых этапах эмбрионального развития (Каштальян О.А., Ушакова Л.Ю., 2017). Например, цитокины группы ФНО, фактор роста стволовых клеток, трансформирующие ростовые факторы и ряд хемокинов регулируют дифференцировку клеток, миграцию лимфоидных предшественников и закладку органов иммунной системы (Каштальян О.А., Ушакова Л.Ю., 2017). Для оптимального формирования цитокиновой сети плода клетки плаценты синтезируют не только иммунорегуляторные цитокины Т-хелперов 1-го и 2-го типов, но и провоспалительные цитокины. Например, в первом триместре беременности в плаценте обнаружена экспрессия генов ИЛ-10 и других цитокинов Th-1 и Th-2 (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008).

Период новорождённости, когда иммунная система крыс ещё функционально незрелая, характеризуется низким содержанием эндогенных половых стероидов и высокой концентрацией экзогенного эстрадиола, поступающего с молоком матери (Chirico G., 2005). В возрасте 10 дней у крыс на фоне низкого содержания половых гормонов наблюдается интенсивное созревание иммунной системы: повышение функциональной активности клеток, реализующих реакции врождённого и адаптивного иммунитета (Ярилин А.А., 2010). В возрасте 5 – 6 недель после рождения у крыс наступает половое созревание, характеризующееся у самок наличием эстрального цикла, в течение которого наблюдаются колебания содержания женских стероидных половых гормонов (Косырева А.М., 2016).

При исследовании цитокинового профиля крыс Вистар выявлено, что у самцов и самок с возрастом происходит повышение уровня продукции провоспалительного цитокина ФНО- α клетками селезёнки (Симонова Е.Ю. и др., 2014). Интенсивность синтеза провоспалительного цитокина ИЛ-6 у десятидневных самцов и самок была выше по сравнению с новорождёнными

крысами, тогда как у половозрелых животных наблюдалось снижение этого показателя.

Провоспалительный цитокин ИЛ-6 оказывает стимулирующее влияние на процессы пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов, связанные с созреванием Т-клеточного звена иммунитета (Зарубина Е.Г., 2014), что может обуславливать повышение уровня продукции этого цитокина у десятидневных крыс по сравнению с новорождёнными и половозрелыми животными (Симонова Е.Ю. и др., 2014). Кроме того, в данном периоде постнатального развития происходит становление кишечной микробиоты, которая стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов клетками селезёнки (Gundle L., Atkinson A., 2020).

Содержание ИЛ-10 в сыворотке крови самцов в возрасте 3-х месяцев больше по сравнению с 9-месячными особями. У самок 9-месячного возраста сывороточная концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10 больше, чем у самцов (Повещенко А.Ф. и др., 2014).

Повышение с возрастом уровня ФНО- α связывают с появлением различных возраст-ассоциированных заболеваний: сахарный диабет, старческая астения, остеопороз, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца и хроническая сердечная недостаточность. Так, например, повышение содержания ФНО- α способствует формированию различных метаболических нарушений (Тополянская С.В., 2020).

2.4. Стресс и его влияние на физиологическое развитие крыс

Стресс является одним из факторов, способных нарушать процессы закладки и становления механизмов саморегуляции гомеостаза в пре- и постнатальном онтогенезе животных и человека (Николаева И.В., Белолобская Д.С., 2012).

Влияние стресса плавания в холодной воде на физиологические показатели у млекопитающих изучено во многих работах (Szuran T. *et al.*, 1991; Shu J. *et al.*, 1993; Lafrance M. *et al.*, 2010; Rajkumar R. *et al.*, 2016). Например, показано, что острое стрессорное воздействие на модели плавания молодых крыс в воде при температуре 2°C в течение 3,5 минут вызывает постепенное снижение

ноцицептивной чувствительности (Kramer E., Bodnar R.J., 1986). Плавание в холодной воде приводит к активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (Feng J.H. *et al.*, 2021) и увеличению уровня кортикостерона плазмы (García-Díaz E.C. *et al.*, 2015). В данных условиях наблюдается облегчение периферической невропатической боли, что улучшает физиологическое состояние крыс (Hsieh Y.-L. *et al.*, 2022). Регулярное плавание при низких температурах до и во время беременности сопровождается ослаблением стрессорной реакции за счёт снижения уровня циркулирующего КРГ в крови матери (Gundle L., Atkinson A., 2020).

2.4.1. Пренатальный стресс

Отрицательные эмоциогенные воздействия во время беременности приводят к гормональным перестройкам, вызывающим многочисленные поведенческие отклонения у потомства (Götz A.A., Stefanski V., 2007; Roshan-Milani S. *et al.*, 2021).

Стресс плавания в холодной воде во время беременности приводит к нарушениям эстрального цикла и гормонального статуса у самок после родов (Wang D. *et al.*, 2020a; Wang D. *et al.*, 2020b), увеличению частоты резорбции плодов (Silveira A.S. *et al.*, 2018), снижению показателей стресс-индуцированной анальгезии (Choi S.-J. *et al.*, 1998), повышению содержания кортикостерона у взрослого потомства мужского и женского пола (García-Vargas D. *et al.*, 2019), а также к нейроэндокринным изменениям, которые, в свою очередь, могут влиять на иммунные функции.

Доказано, что воздействие на крыс стресс-фактора – иммобилизации в узких пластиковых пеналах при повышенной освещённости с 14-го по 17-й день беременности – приводит к стойким нарушениям гормонального фона потомства, что может быть связано с изменениями концентрации гормонов в системе «мать – плацента – плод», сохраняющимися в пубертатном периоде постнатального развития (Николаева И.В., Белолобская Д.С., 2012). Отмечено, что указанное

стрессорное воздействие также приводит к ряду морфофизиологических отклонений головного мозга, надпочечников и гонад у потомства.

В литературе имеются данные, демонстрирующие влияние социальных факторов, например, особенностей материнского ухода за потомством, на показатели болевого поведения и ноцицептивной чувствительности у крысят (Rokyta R. *et al.*, 2008).

Последствия воздействий, оказываемых на мать, для потомства в большей степени определяются сроком гестации. Стрессорная нагрузка на самок во втором триместре беременности приводит к появлению признаков акселерации у потомства на 21-й день жизни (Рыжавский Б.Я., Соколова Т.В., 2002).

Ежедневная 60-минутная иммобилизация беременных самок крыс в пластиковых пеналах в период, критический для формирования нейроэндокринных механизмов стресс-реактивности (15 – 19-й дни беременности), вызывает значимый рост базального уровня кортикостерона в плазме крови взрослого потомства мужского пола (Смоленский И.В., 2018). Показано, что активация гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы у пренатально стрессированных крыс связана с увеличением содержания кортиколиберина и вазопрессина в паравентрикулярном ядре гипоталамуса. Снижение числа глюкокортикоидных рецепторов в зубчатой извилине гиппокампа после пренатального стресса сопровождается нарушением механизма отрицательной обратной связи в указанной выше системе. Моделирование посттравматического стрессового расстройства у пренатально стрессированных 3-х месячных самцов приводит к формированию тревожно-депрессивного состояния и длительному снижению уровня глюкокортикоидов в крови.

Иммобилизационный стресс у крыс в последний триместр беременности изменяет соотношение половых стероидов в крови беременных самок и их плодов в сторону увеличения концентрации андрогенов (Зайченко И.Н., 2000). Уровень кортикостерона в крови в этот период у стрессированных самок повышен, в то время как у плодов – снижен. Следует отметить, что сниженное содержание тестостерона в крови у пренатально стрессированных самцов крыс сохраняется и

после наступления половозрелости. Отмечено, что пренатальный стресс нивелирует половые различия в уровне тревожности и двигательной активности у неполовозрелых одномесячных крысят.

Показано, что стрессорная нагрузка у самок крыс Sprague-Dawley в течение последней недели беременности изменяет реакцию иммунной системы потомства во взрослом возрасте в условиях острого и хронического иммобилизационного стресса (Llorente E. *et al.*, 2002). При этом материнский стресс приводит к снижению общего числа лейкоцитов в периферической крови взрослого потомства и гипертрофии надпочечников у самок, но не у самцов.

Половой диморфизм в чувствительности к пренатальным стрессорам продемонстрирован и на взрослом потомстве крыс Long-Evans (Verstraeten B.S.E. *et al.*, 2019). Внутритрубный стресс на модели иммобилизации в сочетании с принудительным плаванием с 12-го по 18-й дни пренатального развития усиливал тревожное поведение у взрослого потомства мужского пола, в то время как соответствующие показатели у самок были более вариабельны и зависели от возраста.

Ангедонические и депрессивноподобные нарушения поведения пренатально стрессированных крыс обнаружили J. Ślusarczyk с соавт. (2015). У трехмесячных самцов крыс Sprague-Dawley выявлен рост экспрессии маркёров активации микроглии, а также усиление высвобождения провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 β , ИЛ-18, ФНО- α , ИЛ-6 и других. В той же работе показано, что самцы животных, подвергшиеся пренатальному стрессу, демонстрируют увеличенное время неподвижности и сокращённые периоды плавания и лазания в тесте Порсолта по сравнению с интактными особями. Кроме того, установлено, что материнский стресс в последнем триместре беременности сопровождается увеличением экспрессии провоспалительных цитокинов в клетках микроглии потомства.

Последствия комбинированного стресса у беременных самок *Rattus Muridae* со 2-го по 16-й дни беременности носят стойкий характер и сохраняются у потомства вплоть до полового созревания (Беляева Л.Е. и др., 2015). У

пренатально стрессированных животных наблюдается повышение уровня тревожности и показателей болевой чувствительности, а также снижение исследовательской активности и физической выносливости. При этом пренатально стрессированные самцы характеризуются более высоким уровнем тревожности и меньшей исследовательской активностью, чем самки.

2.4.2. Стресс и ноцицепция

Стресс представляет собой разветвлённую системную реакцию организма, которая сопровождается нарушениями многих физиологических функций, в том числе, ноцицептивной чувствительности (Алексеева И.В. и др., 2022). Исследования в области алгологии продемонстрировали, что острые стрессорные нагрузки приводят к так называемой стресс-аналгезии – снижению болевой чувствительности (Butler R.K., Finn D.P., 2009), в то время как хронический стресс вызывает механическую и холодовую аллодонию (Bardin L. *et al.*, 2009; Burke N.N. *et al.*, 2015), тепловую гипералгезию (Shi M. *et al.*, 2010).

А. Hormozi с соавт. (2018) установлено, что хронический стресс сопровождается изменениями болевой чувствительности, проявляющимися в гипералгезии. В указанных условиях выявлено снижение уровня экспрессии мРНК μ -опиоидных пептидов в спинном мозге крыс, что по мнению авторов может быть следствием вызванной стрессом гипералгезии.

Е.Н. Чуян с соавт. (2016) отмечают, что гипокинезия или ограничение подвижности является стресс-фактором, который изменяет ноцицептивную чувствительность у животных при болевых воздействиях разной этиологии. Данные изменения показателей ноцицепции у экспериментальных животных зависят от продолжительности иммобилизации и могут служить критерием перехода эустресса в дистресс.

В других исследованиях показано, что повторные стрессорные нагрузки на модели ежедневной 4-часовой иммобилизации в течение 8 дней у крыс с разными поведенческими параметрами сопровождаются усилением перцептуального компонента ноцицепции на 2-е и 7-е сутки наблюдений (Козлов А.Ю. и др., 2015).

Существенно, что изменения эмоционального компонента болевой чувствительности в этих экспериментальных условиях значительно различались в зависимости от показателей поведения животных и периода исследования.

R.K. Butler и D.P. Finn (2009) продемонстрировали, что выраженность стресс-индуцированной анальгезии индивидуальна и зависит от многих факторов, в том числе от пола и возраста млекопитающих, а также от характера воздействующих внешних факторов.

2.4.3. Стресс и иммунная система

Стресс, как неспецифическая реакция организма, развивающаяся под влиянием различных воздействий, играет важную роль в развитии адаптации к широкому спектру факторов внешней и внутренней среды (Солодков А.П., Яцковская Н.М., 2010).

Характер и направленность иммунного ответа различаются в условиях острого и хронического стресса (Комарова О.Н., Хавкин А.И., 2020). Показано, что острый стресс усиливает защитные процессы в организме, а хронический вызывает дистресс-синдром, который приводит к подавлению клеточного и гуморального звеньев иммунитета, способствует развитию патологических иммунных реакций. Провоспалительные цитокины (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6) быстро вырабатываются активированными макрофагами и регулируют разные звенья воспалительного ответа. Как при остром, так и при хроническом стрессе происходит повышение уровня маркёров воспаления в периферической крови: провоспалительных цитокинов, острофазового С-реактивного белка (Комарова О.Н., Хавкин А.И., 2020). Продукции и действию провоспалительных факторов противостоит ряд противовоспалительных цитокинов (в частности, ИЛ-10), нейропептиды (вазопрессин) и глюкокортикостероиды.

Участие цитокинов в стрессорных реакциях связано с их модулирующим воздействием на нейрохимические, нейрофизиологические и молекулярные процессы в структурах головного мозга (Перцов С.С., 2017).

Существенно, что нарушение баланса про- и противовоспалительных цитокинов приводит к нарушению гомеостаза в организме и развитию хронических воспалительных процессов (Волков А.О., 2015).

При стрессорном воздействии происходит повышение содержания воспалительных цитокинов, что вносит вклад в активацию блуждающего нерва («воспалительный рефлекс»), сопровождающуюся снижением уровня провоспалительных цитокинов (Токарев А.Р., 2019). Ацетилхолин подавляет продукцию провоспалительных цитокинов (например, ФНО- α) макрофагами. Образование медиаторов воспаления, в том числе, ФНО- α при стрессе стимулируется кортизолом и серотонином. ФНО- α может вызывать повышение содержания дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА), который предотвращает психологическую дезадаптацию и стресс-индуцируемые заболевания.

При стрессорном воздействии у млекопитающих в мозге наблюдается активация не только провоспалительных, но и противовоспалительных цитокинов, в том числе, ИЛ-10 (Токарев А.Р., 2019). Сигналы цитокинов влияют на развитие Т-регуляторных (Трег) клеток, выполняющих функцию медиаторов иммунологической толерантности. Под действием ИЛ-10 Трег клетки могут дифференцироваться в адаптивные, а Т-хелперы – в Трег клетки. Th-2-клетки вырабатывают ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13. Установлено, что ДГЭА обладает способностью снижать синтез ИЛ-10. Угнетая ответ Th-2-клеток и стимулируя Th-1-клетки, ДГЭА снижает выраженность стресс-индуцированных нарушений иммунной системы и степень когнитивной дисфункции. Сбалансированность функций иммунной системы во многом обеспечивается эффектами ДГЭА, повышением численности Трег и преобладанием Th-2- над Th-1-ответом.

В работе И.М. Котиевой с соавт. (2022) изучена стадийность изменений цитокинового профиля крови у крыс в динамике развития хронической боли на модели пролонгированного периодического болевого стресса. Выявлено, что изменения цитокинового профиля на ранних стадиях хронического болевого процесса проявляются в повышении уровня провоспалительных цитокинов, а на поздних – в усилении активности противовоспалительных.

Предполагается, что усиленный синтез провоспалительных цитокинов, действие которых приводит к интенсификации свободнорадикального окисления, нарушению функций серотонинергической системы и развитию резистентности соответствующих рецепторов к глюкокортикоидам, способствуют возникновению тревожно-депрессивных расстройств (Степаничев М.Ю. и др., 2018).

Стресс-индуцированные изменения функций иммунокомпетентных клеток, в отличие от колебаний уровня гормонов в крови (повышение кортикостерона и снижение тестостерона), зависят от силы стрессорного воздействия (Рыбакина Е.Г. и др., 2012).

В работе, проведённой Л.С. Калиниченко с соавт. (2011), показано, что стрессорные нагрузки разной этиологии у млекопитающих сопровождаются нарушениями иммунного статуса, в том числе, изменением цитокинового профиля крови, а также интенсивности обмена веществ. Наблюдающиеся при этом колебания продукции инсулина и глюкагона, синтеза глюкозы могут вносить вклад в развитие сахарного диабета.

Хронические стрессорные воздействия на беременных крыс являются важным фактором риска различных патологий не только у материнских особей, но и у потомства (Ковальцова М.В., 2014). Например, установлено, что усиление процесса апоптоза, гемодинамические нарушения, дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов наблюдаются как у самок крыс, находящихся в условиях хронического стресса до и в период беременности, так и у потомства.

В работе О.А. Овсянниковой с соавт. (2016) приведены данные о нарастающем нарушении продукции провоспалительных цитокинов у самцов белых нелинейных крыс 1,0 – 1,5 года вследствие хронического воздействия серосодержащего газа. При этом повышение продукции ФНО- α в первый месяц наблюдений способствовало адаптации организма, а на более поздних сроках могло приводить к изменениям микроциркуляции. В указанных условиях выявлены также изменения концентрации ИЛ-10, что указывает на нарушения функций противовоспалительной системы.

Известно, что оксидативный стресс лежит в основе патогенеза разных заболеваний, в том числе сердечно-сосудистой и нервной систем, а также вносит вклад в развитие воспалительных процессов (Цветикова Л.Н. и др., 2015). В указанных условиях наблюдается усиление экспрессии генов антиоксидантов, факторов транскрипции и цитокинов, в том числе ФНО- α .

А.П. Солодковым с соавт. (2013) обнаружено, что иммобилизационный стресс сопровождается усиленным образованием интерлейкинов, которое контролируется глюкокортикоидами, катехоламинами и тиреоидными гормонами. Данные физиологически активные вещества принимают непосредственное участие в формировании стрессорной реакции. В условиях острого стресса, вызванного 60-мин иммобилизацией, у самок беспородных белых крыс интенсивно продуцируются провоспалительные цитокины ИЛ-1 β и ФНО- α , индуцирующие активность генов, ответственных за синтез iNOS.

Продemonстрировано, что острый и хронический холодовой стресс у мышей, вне зависимости от продолжительности, усиливает продукцию ИЛ-10 перитонеальными макрофагами (Шаравьева И.Л., Гейн С.В., 2019).

Необходимо подчеркнуть, что стрессорные нагрузки у млекопитающих приводят к выраженным изменениям состояния иммунокомпетентных органов.

В опытах на самцах Sprague-Dawley показано, что при хроническом стрессе происходит снижение числа клеток в тимусе вследствие избыточного апоптоза тимоцитов (Федорова О.В. и др., 2016). Именно этот процесс является ведущим механизмом снижения числа клеток при акцидентальной инволюции тимуса на ранних этапах постнатального онтогенеза. Ещё один механизм гипоплазии тимоцитов – подавление пролиферативной активности.

В работе Д.К. Гармаевой с соавт. (2019) изучено влияния экспериментального холодowego стресса в холодильной камере при $-10\pm 20^{\circ}\text{C}$ на морфофункциональное состояние тимуса крыс. В указанных условиях на 7-е, 21-е и 30-е сутки наблюдений выявлено перераспределение объёма и клеточного состава, различных структурно-функциональных зон тимуса, что свидетельствует

о снижении функциональной активности тимуса, усилении гибели лимфоцитов по типу апоптоза, снижении митотической активности и накоплении макрофагов.

В дополнение к сказанному нужно отметить, что в условиях стресса происходят также изменения морфофункционального состояния селезёнки. Например, на 3-е сутки после иммобилизации выявлены морфологические признаки снижения активности белой пульпы (Клочкова С.В. и др., 2021).

У самцов крыс Вистар при моделировании посттравматического стрессорного расстройства – предаторный стресс – обнаружены реактивные изменения функциональных зон белой пульпы селезёнки (Кондашевская М.В., 2018). Опустошение белой пульпы может свидетельствовать об усилении процессов рециркуляции лимфоцитов, что косвенно указывает на реализацию тесного взаимодействия между иммунной системой и ЦНС. Эти изменения, возможно, определяют длительность тревожно-депрессивного состояния животных, наблюдающегося в указанных условиях.

Результаты клинических и экспериментальных исследований, рассмотренные в «Обзоре литературы», указывают на то, что стресс и связанные с ним заболевания являются одной из актуальных проблем современности. Различные экстремальные воздействия, такие как военные конфликты, стихийные бедствия, социальная неудовлетворённость и другие, являются сильными стрессогенными факторами, степень влияния которых на человека сложно переоценить. В плане сохранения здоровья будущих поколений большое внимание уделяется вопросу пренатального стресса. Согласно концепции фетального программирования, неблагоприятные условия внутриутробного развития, например, материнские стрессы вносят значительный вклад в формирование физиологических нарушений у плода, последствия которых могут наблюдаться и в постнатальной жизни.

Результатом стрессорных нагрузок на организм женщины во время беременности является развитие целого ряда патологических состояний у потомства, проявляющихся в разном возрасте. К ним относятся отклонения

поведения, иммунная и гормональная дисфункция, болезни пищеварительной и сердечно-сосудистой систем, расстройства психических функций и другие. Важная роль в патогенезе функциональных изменений и заболеваний, возникающих вследствие пренатального стресса, отводится нарушению нейроиммунных взаимодействий. Реализация наблюдающихся в норме двусторонних связей между иммунной системой и ЦНС во многом осуществляется с вовлечением сигнальных молекул – цитокинов.

Совершенно очевидно, что изучение интегративных процессов, происходящих в различных функциональных системах и направленных на поддержание гомеостаза организма в разных условиях жизнедеятельности, требует обязательного применения системного подхода к анализу физиологических функций.

Несмотря на значительный интерес и высокую актуальность изучения механизмов влияния пренатального стресса на потомство, многие вопросы в этой области остаются нерешёнными. В частности, недостаточно изучены половые различия ноцицептивных реакций у млекопитающих, подвергшихся влиянию отрицательных эмоциогенных факторов на этапе органогенеза. Неизвестна специфика иммунных параметров – цитокинового профиля крови и состояния иммунокомпетентных органов – у потомства разного пола и возраста после внутриутробной стрессорной нагрузки. Не исследованы особенности взаимосвязей между показателями болевой чувствительности и иммунных функций у самцов и самок животных в различные периоды жизни после пренатального стресса. Представленная экспериментальная работа была посвящена решению указанных вопросов.

3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Условия содержания животных

Взрослые половозрелые самцы ($n = 12$) и самки ($n = 28$) крыс массой 180 – 200 г были получены из питомника «Столбовая» и содержались в условиях вивария с соблюдением основных зоогигиенических требований: в условиях искусственного освещения (12 ч / 12 ч: 8:00 – 20:00 – свет, 20:00 – 8:00 – темнота), при температуре воздуха 20 – 22°C, по четыре особи в стандартных клетках, при свободном доступе к воде и пище (Беляков В.И., 2008). С целью адаптации к условиям вивария до начала эксперимента животные находились на карантине в течение 6 дней. На протяжении указанного периода крысы ежедневно в течение 15 минут подвергались процедуре хэндлинга с целью предупреждения развития стрессорной реакции на взятие в руки экспериментатора. Полученное от взрослых животных потомство ($n = 96$) на протяжении эксперимента находилось в этих же условиях.

Манипуляции, которые проводились с экспериментальными животными при выполнении исследования, соответствовали международным нормам по биоэтике. Исследование проведено в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждённых этической комиссией НИИНФ им. П.К. Анохина (протокол №1 от 03.09.2005), Европейской конвенцией по защите экспериментальных животных и требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA).

3.2. Экспериментальная модель стрессорного воздействия

Беременных самок опытной группы подвергали принудительному плаванию в воде при температуре 10°C в течение 5 минут с 10-го по 16-й день беременности (Hamm R.J., Knisely J.S., 1987). Животных погружали в пластиковый резервуар (объём – 20 л, диаметр – 60 см), предварительно остудив воду льдом до нужной температуры.

После плавания крыс высушивали бумажными полотенцами и помещали в домашние клетки (Rajkumar R. *et al.*, 2016). Процедуру повторяли для каждого животного в одно и то же время в период с 12.00 до 16.00. Используемая модель вызывает формирование стрессорного состояния у крыс и широко используется в экспериментальных исследованиях при изучении ноцицепции, эндокринных механизмов стресса, а также характера его влияния на эндогенную анальгетическую систему, когнитивные функции и обучение (Bodnar R.J. *et al.*, 1978; Welker H.A., Vollrath L., 1984; Hamm R.J., Knisely J.S., 1987; Szuran T.F. *et al.*, 2000). Данные о характере влияния стрессорных воздействий на физиологические функции млекопитающих приведены в разделе 2.4.

3.3. Изучение ноцицептивной чувствительности крыс

В ходе исследования были изучены перцептуальный и эмоциональный компоненты ноцицепции животных.

Болевую чувствительность исследовали в светлое время суток с 12:00 до 15:00. Перед началом тестирования с целью адаптации крыс помещали в стандартные пластиковые пеналы на 15 минут (длина – 16,5 см, высота – 5,5 см, ширина – 7 см или длина – 23,5 см, высота – 6,5 см, ширина – 7 см).

3.3.1. Регистрация перцептуального компонента ноцицепции

Перцептуальный компонент ноцицепции крыс оценивали по латентному периоду реакции отведения хвоста (ЛПРОХ, сек) в ответ на свето-термальное раздражение (tail-flick test; Le Bars D. *et al.*, 2001) на приборе Tail-Flick Analgesia Meter 0104-301V (Columbus Instruments, USA) (Перцов С.С. и др., 2019). Иммобилизированное в пластиковом пенале животное помещали на площадку прибора; хвост располагали в специальном углублении и подвергали светотермальному воздействию с исключением риска повреждения покровных тканей. Анализируемый показатель определялся прибором автоматически от момента включения светового раздражителя до отдергивания крысой хвоста (с

точностью до 0,1 сек). Рассчитывали индивидуальное среднее значение ЛПРОХ для каждого животного после трёхкратного повторения описанной процедуры.

3.3.2. Регистрация эмоционального компонента ноцицепции

Эмоциональный компонент болевой чувствительности крыс изучали по порогу вокализации (ПВ, мА) методом электрокожного раздражения хвоста (Козлов А.Ю. и др., 2015). Электрокожное раздражение подавали на хвост иммобилизованного в пластиковом пенале животного с помощью электростимулятора SEN-3201 (Nihon Kohden, Japan). Для этого использовали 2 кольцевых электрода из медной проволоки, находящихся на хвосте крысы на расстоянии 2,5 – 3,0 см друг от друга. Перед подачей сигнала в область наложения электродов наносили электродный контактный гель (Унигель, ООО «Гельтек-Медика», Россия). Использовали следующие параметры стимуляции: частота импульса – 10 Гц, длительность – 0,5 мс. Силу тока постепенно увеличивали с 0,25 мА до показателя, при котором животное издавало писк (вокализацию); после этого электростимуляцию прекращали (Перцов С.С. и др., 2019).

3.4. Определение относительной массы иммунокомпетентных органов – тимуса и селезёнки

По окончании исследований животных взвешивали, декапитировали и вскрывали. Иммунокомпетентные органы были извлечены, освобождены от окружающих тканей и взвешены на электронных лабораторных аналитических весах CAS CAUW-220D (CAS, Ю. Корея) и GR-202 (A&D Co., LTD, Japan).

Относительная масса органов рассчитана на 100 г массы тела животного.

3.5. Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс

Определение концентрации провоспалительного (ФНО- α) и противовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови животных проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моно- и поликлональных антител (АО «Вектор-Бест», Россия).

После декапитации кровь собирали в пробирки, добавляли сывороточный разделитель (S-Monovette® SARSTEDT, Germany) и отстаивали 30 минут. Центрифугирование проводили на настольной лабораторной центрифуге (MULTI CENTRIFUGE FUGE CM 6M, ELMi, Latvija) при температуре 4°C в течение 10 минут со скоростью 3000 об/мин. Полученные пробы сыворотки крови с помощью 1-канальной автоматической пипетки (Eppendorf Reference 2, 100 – 1000 мкл) собирали в пробирку типа Эппендорф (Диа-м) и замораживали в жидком азоте. Пробы сыворотки хранили в низкотемпературной камере при -70°C.

В день проведения иммуноферментного анализа сыворотки были разморожены. Все компоненты набора и сыворотку крови готовили к началу работы, согласно инструкции производителя. Исследуемые образцы сыворотки крови выдерживали при комнатной температуре (от 18 до 25°C) в течение не менее 30 минут. Далее во все лунки планшета вносили разведённые калибровочные, контрольные и анализируемые образцы сыворотки крови крыс (по 100 мкл). Планшет заклеивали плёнкой и инкубировали в течение 2 часов при встряхивании на шейкере (температура 37°C, 700 об/мин). После инкубации плёнку снимали, лунки планшета 5-кратно промывали промывочным раствором с помощью промывочного устройства. На следующем этапе в лунки вносили по 100 мкл конъюгата №1 и инкубировали в шейкере 1 час при 37°C и 700 об/мин; содержимое лунок удаляли, и планшет промывали буфером 5 раз. Данную процедуру повторяли с конъюгатом №2; инкубирование проводили при той же температуре в течение 30 минут, далее лунки промывали. Во все лунки планшета вносили по 100 мкл раствора тетраметилбензидина плюс и инкубировали в темноте в течение 25 минут при комнатной температуре (от 18 до 25°C). Реакцию останавливали стоп-реагентом, который вносили по 100 мкл в лунки планшета в той же последовательности; содержимое лунок окрашивалось в жёлтый цвет. Измерение оптической плотности раствора проводили на иммуноферментном анализаторе (HTI ImmunoChem-2100; Microplate reader, США) в течение 10 минут в двухволновом режиме: при длине волны 450 нм и референсе 620 нм.

По результатам измерения вычисляли среднее арифметическое значение оптической плотности анализируемых образцов; строили калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации цитокина (рис. 1 и 2).

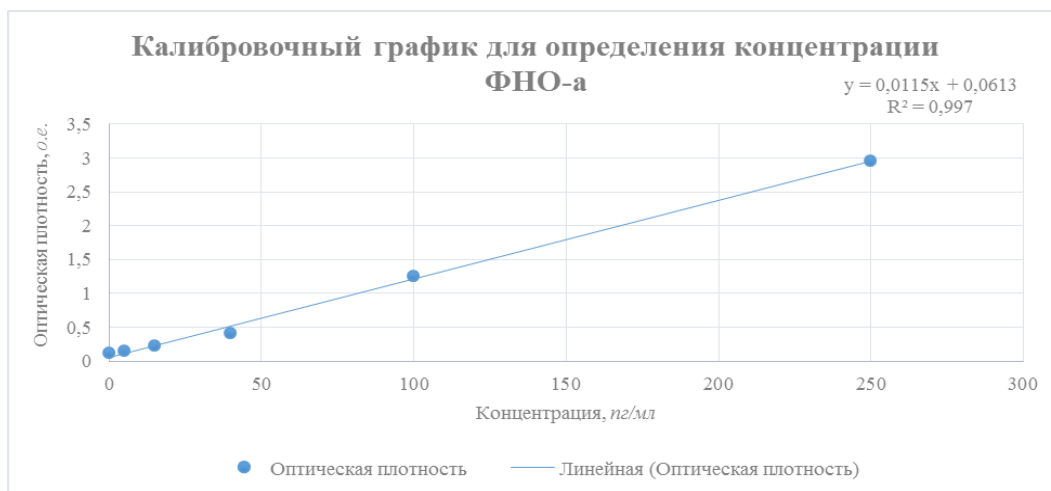


Рисунок 1. Калибровочный график для ФНО-α.



Рисунок 2. Калибровочный график для ИЛ-10.

3.6. Дизайн эксперимента

Эксперименты проведены на 96 крысах Вистар подсосного (21-е сутки жизни), инфантильного (30-е сутки жизни) и ювенильного возраста (60-е сутки жизни), полученных в результате разведения родительских особей (самцы, $n = 12$; самки, $n = 28$).

До 21-го дня жизни крысята остаются с самкой на молочном кормлении, далее полностью переходят на самостоятельное питание (Сахаров П.П., 1937). Животные на 30-е сутки постнатального онтогенеза являются неполовозрелыми, а

к 60-му дню достигают половой зрелости. Физиологические особенности каждого возрастного периода крыс подробно описаны в разделе 2.1.

Взрослых самок – материнских особей – содержали вместе по 4 крысы в клетке в течение 1 недели с целью синхронизации эстральных циклов (Клочков Д.В., Алехина Т.А., 2014).

Самцов ссаживали с самками, находящимися в фазе эструса (рис. 3). Время и длительность ссаживания животных – с 21.00 до 07.00 – определялись условиями сохранения сперматозоидов в половых путях самки (Huber G.C., 1915) и высокой поведенческой активностью грызунов в тёмное время суток (Дыбан А.П., 1988).

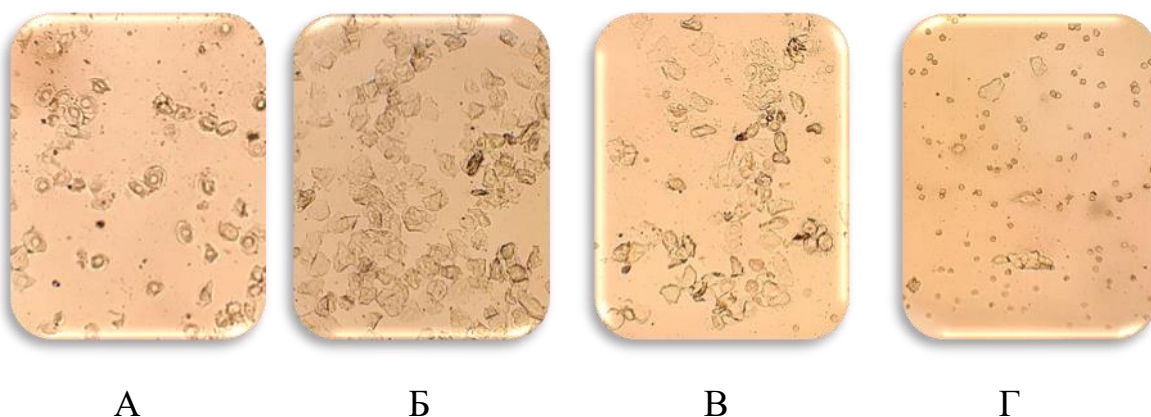


Рисунок 3. Фазы эстрального цикла крысы: проэструс (А), эструс (Б), метаэструс (В), диэструс (Г) (без окрашивания, $\times 10$).

Для верификации факта спаривания у самки ежедневно в 07.00, с учётом правила «одного часа», брали влагалищный мазок на предмет наличия в нём сперматозоидов (Владимирская Т.Э. и др., 2011). Цитологический состав мазка в фазе эструса небеременной и беременной крысы представлен на рисунке 4.



Рисунок 4. Цитологический состав влагалищного мазка небеременной (А) и беременной крысы (Б): 1 – клеточные чешуи, 2 – сперматозоиды (без окрашивания, $\times 40$).

Сбор материала для цитологического исследования осуществляли ватно-марлевым тампоном или гигиенической ватной палочкой, предварительно смоченной в физиологическом растворе. Аккуратным прикосновением к стенке влагалища, во избежание соскабливания клеток, материал собирали и тонким слоем наносили на предметное стекло в каплю физиологического раствора. Расшифровку клеточного состава влагалищного мазка проводили без окрашивания под электронным микроскопом БИОМЕД-5 при увеличении $\times 10$, $\times 40$. Первым днём беременности считали день обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке крысы. Общая схема эксперимента приведена на рисунке 5.



Рисунок 5. Общая схема эксперимента.

Беременных самок случайным образом распределяли на две экспериментальные группы и содержали в индивидуальных клетках вплоть до рождения потомства. Животные контрольной группы ($n = 14$) проходили процедуру хэндлинга с целью предотвращения стресс-реакции на взятие в руки исследователя; они находились в домашних клетках на протяжении всего эксперимента. Четырнадцать самок опытной группы с 10 – 16-й день беременности подвергали стрессу плавания в холодной воде в течение 5 минут при температуре 10°C (см. раздел 3.2).

На 21 – 23-й день беременности фиксировали рождение крысят. С момента рождения и до окончания периода молочного кормления (21-й день жизни) потомство находилось вместе с самкой.

На 21-й день постнатального онтогенеза крысят отсаживали от матери и случайным образом распределяли на группы по следующим признакам: полу, возрасту, экспериментальным условиям (контроль / опыт). Таким образом, были выделены 12 групп животных, каждая из которых состояла из 8 особей (таблица 1). Условия содержания животных не изменялись на протяжении всего исследования.

Таблица 1. Экспериментальные группы

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ	Контроль						Пренатальный стресс					
	самцы			самки			самцы			самки		
ПОЛ												
ВОЗРАСТ, сутки	21	30	60	21	30	60	21	30	60	21	30	60
ГРУППА, №	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII

В заключительный день наблюдений крыс взвешивали; регистрировали показатели ноцицептивной чувствительности (см. раздел 3.3). После декапитации животных извлекали тимус и селезёнку (см. раздел 3.4); пробы сыворотки крови собирали и замораживали для дальнейшего иммуноферментного анализа концентрации цитокинов (см. раздел 3.5).

3.7. Статистическая обработка данных

Обработку полученных данных осуществляли с использованием программ Microsoft Office Excel 2019 и STATISTICA 10.0. В связи с тем, что групповые выборки данных не подчинялись закону нормального распределения (критерий Шапиро-Уилка), для проведения статистического анализа применяли непараметрические методы – критерий Краскела-Уоллиса и *U*-критерий Манна-Уитни для независимых групп. Для проведения корреляционного анализа внутригрупповых связей между исследуемыми показателями использовали непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Минимальный принятый уровень значимости наблюдающихся отличий составлял 5%. Числовые данные в группах представляли в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q1; Q3) – 25 и 75% соответственно.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования влияния внутриутробного стресса на модели ежедневного принудительного плавания материнских особей в холодной воде (10°C, 5 минут) с 10-го по 16-й день беременности на ноцицептивную чувствительность и иммунные параметры у потомства крыс различного возраста и пола были проанализированы следующие показатели:

- перцептуальный и эмоциональный компоненты ноцицепции – латентный период реакции отведения хвоста и порог вокализации в ответ на ноцицептивное воздействие (см. раздел 4.1);
- состояние иммунокомпетентных органов – относительная масса тимуса и селезёнки (см. раздел 4.2);
- концентрация цитокинов – фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) – в сыворотке периферической крови (см. раздел 4.3);
- корреляционные связи между анализируемыми физиологическими параметрами (см. раздел 4.4).

Исследование выполнено на самцах и самках крыс линии Вистар подсосного, инфантильного и ювенильного возраста (21-е, 30-е и 60-е сутки жизни соответственно), распределённых на 12 групп по 8 животных в каждой в соответствии с экспериментальными условиями, полом и возрастом (см. раздел 3.6, таблица 1).

Сравнительный анализ изученных показателей у крыс был проведён между пренатально стрессированными и интактными особями, самцами и самками, а также особями разного возраста.

4.1. Ноцицептивная чувствительность после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза

В настоящем разделе представлены результаты изучения изменений различных компонентов ноцицептивной чувствительности у крыс разного пола и возраста, перенёвших пренатальный стресс на модели плавания в холодной воде (Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., 2020; Субботина А.Ю. и др., 2022а; Субботина А.Ю. и др., 2022в; Субботина А.Ю. и др., 2022г).

Показателем перцептуального компонента ноцицепции являлся латентный период реакции отведения хвоста (ЛПРОХ), а эмоционального – порог вокализации (ПВ) животных в ответ на ноцицептивное воздействие. Полученные данные представлены графически на рисунках 6 и 7, а также в виде числовых значений в таблице 2.

На первом этапе исследования изучены особенности перцептуального компонента ноцицепции у потомства крыс разных экспериментальных групп (рис. 6, табл. 2).

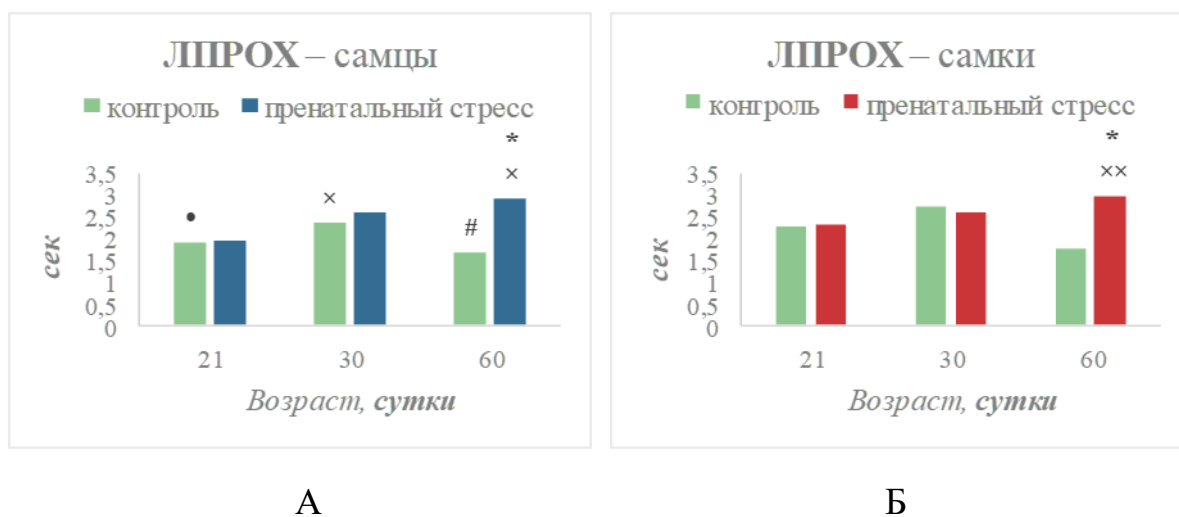


Рисунок 6. Показатель перцептуального компонента ноцицепции (ЛПРОХ, сек) у интактных и внутриутробно стрессированных самцов (А) и самок (Б) крыс в разные периоды постнатального онтогенеза (Ме). * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (нестрессированные животные); $x p < 0,05$ и $xx p < 0,01$ по сравнению с 21-ми сутками; $\# p < 0,05$ по сравнению с 30-ми сутками; $\bullet p < 0,05$ по сравнению с самками.

У самцов контрольной группы выявлены волнообразные колебания ЛПРОХ в период индивидуального постнатального развития (рис. 6А). Показано, что данный показатель на 30-е сутки жизни был на 23,5% больше, чем у 21-дневных животных ($p<0,05$). ЛПРОХ в ответ на светотермальное раздражение снижался к 60-м суткам жизни и был меньше по сравнению с таковым у 21- и 30-дневных особей: на 12,6 и 29,2% ($p<0,05$) соответственно.

Аналогичная тенденция наблюдалась у самок контрольной группы (рис. 6Б). ЛПРОХ на 30-е сутки жизни крыс превышал соответствующее значение у 21-дневных особей (на 21,1%), но к 60-му дню постнатального онтогенеза выражено снижался и был меньше данного параметра у животных подсосного и инфантильного возрастов (на 21,6 и 35,2% соответственно; статистически незначимо).

Необходимо отметить, что на 21-е сутки постнатального онтогенеза выявлены половые различия изученного показателя между контрольными группами: ЛПРОХ в ответ на светотермальное раздражение у самок был на 18,8% больше, чем у самцов ($p<0,05$). В возрасте 30 и 60 суток – инфантильный и ювенильный соответственно – наблюдались сходные отличия, которые, однако, не были статистически значимы (16,5 и 6,6% соответственно).

В ходе изучения характера влияния пренатального стресса на перцептуальный компонент ноцицепции у животных получены следующие данные (рис. 6А, табл. 2). Обнаружено, что у пренатально стрессированных самцов ЛПРОХ в ответ на светотермальное раздражение хвоста в возрасте 21 суток практически не отличается, а на 30-й день жизни – незначительно превышает таковой у интактных особей (на 8,9%). К 60-м суткам постнатального развития у крыс опытной группы данный показатель возрастал и был на 73,6% больше значения у контрольных особей ($p<0,05$).

У внутриутробно стрессированных самцов с возрастом отмечается увеличение ЛПРОХ в ответ на ноцицептивное раздражение. На 30-е сутки жизни изучаемый показатель был выше такового у 21-дневных особей (на 31,1%, статистически незначимо). У самцов, подвергнутых пренатальному стрессу,

ЛПРОХ к 60-м суткам развития был больше значений, чем у 21- и 30-дневных особей: на 47,9% ($p<0,05$) и 12,8% соответственно.

ЛПРОХ у пренатально стрессированных самок в возрасте 21 суток был незначительно больше (на 1,8%), а 30 суток – меньше (на 5,8%), чем у контрольных крыс (рис. 6Б). Однако данные различия не были статистически достоверны. К 60-му дню постнатального развития анализируемый параметр у самок опытной группы на 66,8% превышал таковой у интактных особей соответствующего возраста ($p<0,05$).

Возрастные изменения перцептуального компонента ноцицептивной чувствительности у самок крыс, подвергнутых внутриутробному стрессу, были сходны с таковыми у самцов. У этих особей обнаружено постепенное увеличение ЛПРОХ от 21-го к 30-му (на 12,1%) и 60-му дням постнатального онтогенеза (на 28,6% [$p<0,01$] и 14,7% по сравнению с подсосным возрастом и инфантильным возрастом соответственно).

Как и в группах контрольных животных, после пренатального стресса ЛПРОХ при светотермальном раздражении у самок крыс был больше, чем у самцов: на 21-е сутки – на 17,8%, на 30-е сутки – на 0,8%, на 60-е сутки – на 2,4%. Однако эти различия не достигали уровня статистической значимости.

Следующий этап исследования был посвящён анализу эмоционального компонента ноцицептивной чувствительности у потомства животных разных экспериментальных групп (рис. 7, табл. 2).

У самцов контрольной группы в динамике постнатального онтогенеза обнаружено прогрессивное увеличение ПВ при электрокожном раздражении хвоста (рис. 7А). У 30-суточных особей указанный показатель был на 25% больше, чем на 21-й день жизни, однако, данные различия не были статистически значимы. К 60-м суткам постнатального развития ПВ достигал максимального значения и превышал таковой в предыдущие сроки: 21-й день – на 50% ($p<0,01$), 30-й день – на 20% (статистически незначимо).



Рисунок 7. Показатель эмоционального компонента ноцицепции (ПВ, мА) у интактных и внутриутробно стрессированных самцов (А) и самок (Б) крыс в разные периоды постнатального онтогенеза (Ме). * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (нестрессированные животные); $^x p < 0,05$ и $^{xx} p < 0,01$ по сравнению с 21-ми сутками; $^{\#} p < 0,05$ и $^{###} p < 0,001$ по сравнению с 30-ми сутками.

У потомства самок крыс, не подвергнутых стрессорной нагрузке (рис. 7Б), ПВ в ответ на электростимуляцию снижался на 30-е сутки постнатального онтогенеза – на 20% по сравнению с 21-дневными особями. К 60-му дню данный показатель возрастал на 25% по сравнению с таковым в предыдущий период, достигая значения, обнаруженного на 21-е сутки жизни. Однако эти отличия не достигали уровня статистической достоверности.

Следует подчеркнуть, что по сравнению с самцами у самок интактных групп ПВ на 21-й день развития был больше на 25,0%, а на 30-е и 60-е сутки – меньше на 20,0% и 16,7% соответственно (статистически незначимо).

Впоследствии были изучены изменения эмоционального компонента ноцицепции у потомства крыс, подвергнутых стрессу плавания в холодной воде. ПВ при электрокожном раздражении у пренатально стрессированных самцов в возрасте 21 суток не отличался от контрольного значения (рис. 7А, табл. 2). Однако на 30-й день развития, изученный показатель у крыс опытной группы был меньше по сравнению с таковым у контрольных особей (на 30%, $p < 0,05$). К 60-м суткам жизни ПВ у самцов, перенёсших внутриутробный стресс, несколько

превышал контрольный уровень (на 8,3%), но указанные различия не были статистически значимы.

Необходимо отметить, что после внутриутробного стресса ПВ у 30-дневных самцов был на 12,5% меньше, чем на 21-е сутки жизни. Однако к 60-м суткам постнатального онтогенеза анализируемый показатель возрастал и превышал значения, наблюдающиеся на 21-е и 30-е сутки жизни: на 62,5% ($p<0,01$) и 85,7% ($p<0,05$) соответственно.

Выявлено, что после пренатального стресса ПВ у самок крыс в возрасте 21 и 30 суток был меньше (на 20 и 25%, соответственно), а на 60-й день – больше (на 20%) по сравнению со значениями у интактных особей (рис. 7Б). Однако эти различия не были статистически значимы.

У внутриутробно стрессированных самок наблюдалась тенденция к снижению ПВ на 30-е сутки жизни по сравнению с показателем у 21-дневных крыс (на 25%, статистически недостоверно). К 60-м суткам постнатального онтогенеза у самок опытной группы данный показатель превышал значения на 21-й и 30-й дни жизни: на 50% ($p<0,05$) и 100% ($p<0,001$) соответственно.

Статистически значимые половые различия ПВ при электрокожном раздражении хвоста у пренатально стрессированных особей не обнаружены. Только на 30-е и 60-е сутки постнатального развития анализируемый параметр у самок был незначительно меньше по сравнению с таковым у самцов (на 14,3 и 7,7% соответственно).

Таким образом выявлено, что пренатальный стресс на модели плавания в холодной воде приводит к значимому ослаблению перцептуального компонента ноцицептивной чувствительности у самцов и самок крыс ювенильного возраста (60-е сутки), но не на более ранних стадиях постнатального развития. После внутриутробного стрессорного воздействия усиление эмоционального компонента ноцицепции выявлено избирательно у самцов инфантильного возраста (30-е сутки) по сравнению с контролем. В отличие от интактных особей, пренатально стрессированные крысы характеризуются ослаблением

эмоционального компонента ноцицептивной чувствительности на 60-е сутки жизни по сравнению с предыдущим периодом онтогенеза. Выявленные колебания степени восприятия болевого раздражителя у самцов животных незначительно больше таковых у самок. Изменения изученных компонентов болевой чувствительности, направленность которых зависит от пола потомства и периода постнатального онтогенеза, иллюстрируют отдалённые последствия реорганизации механизмов функционирования ноцицептивной системы у млекопитающих после внутриутробного воздействия стрессогенного фактора во время основного органогенеза.

Таблица 2. Числовые значения показателей ноцицептивной чувствительности самцов и самок крыс разных экспериментальных групп (Ме (Q1; Q3))

ГРУППА, №	ПОЛ	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ	ВОЗРАСТ, сутки	ЛПРОХ, сек	ПВ, мА
I	Самцы	Контроль	21-е	1,91 (1,71; 2,02) •	0,40 (0,40; 0,50)
II			30-е	2,36 (2,23; 2,85) ×	0,50 (0,45; 0,60)
III			60-е	1,67 (1,55; 1,84) #	0,60 (0,55; 0,80) ××
IV		Пренатальный стресс	21-е	1,96 (1,81; 2,58)	0,40 (0,35; 0,40)
V			30-е	2,57 (2,09; 2,84)	0,35 (0,20; 0,55) *
VI			60-е	2,90 (2,56; 3,16) * ×	0,65 (0,50; 0,80) ××#
VII	Самки	Контроль	21-е	2,27 (2,03; 2,61)	0,50 (0,30; 0,70)
VIII			30-е	2,75 (2,03; 3,16)	0,40 (0,30; 0,50)
IX			60-е	1,78 (1,68; 2,10)	0,50 (0,40; 0,60)
X		Пренатальный стресс	21-е	2,31 (2,04; 2,41)	0,40 (0,35; 0,45)
XI			30-е	2,59 (2,37; 2,73)	0,30 (0,20; 0,40)
XII			60-е	2,97 (2,58; 3,34) * ××	0,60 (0,50; 0,65) ××##

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (нестрессированные животные); × $p < 0,05$ и ×× $p < 0,01$ по сравнению с 21-ми сутками; # $p < 0,05$ и ### $p < 0,001$ по сравнению с 30-ми сутками; • $p < 0,05$ по сравнению с самками.

4.2. Состояние иммунокомпетентных органов после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза

В настоящем разделе представлены результаты изучения влияния пренатального стресса, вызванного плаванием материнских особей с 10-го по 16-й день беременности в холодной воде, на состояние иммунокомпетентных органов у самцов и самок крыс разного возраста (Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., 2021в; Субботина А.Ю. и др., 2022в). Проанализированы изменения относительной массы тимуса и селезёнки животных в разных экспериментальных условиях. Полученные данные представлены графически на рисунках 8 и 9, а также в виде числовых значений в таблице 3.

У самцов, полученных от интактных самок, в динамике постнатального онтогенеза выявлено прогрессивное снижение относительной массы тимуса (рис. 8А). Данный показатель на 30-е сутки жизни был меньше, чем у 21-дневных животных (на 41,2%, $p<0,001$). Масса тимуса у контрольных самцов на 60-е сутки была меньше по сравнению с таковой у 21- и 30-дневных крыс: на 42,8% ($p<0,001$) и 2,8% соответственно.



Рисунок 8. Относительная масса тимуса у интактных и внутриутробно стрессированных самцов (А) и самок (Б) крыс в разные периоды постнатального онтогенеза (мг/100 мг массы тела, Ме). * $p<0,05$ по сравнению с контролем (нестрессированные животные); ** $p<0,01$ и *** $p<0,001$ по сравнению с 21-ми сутками; # $p<0,05$ по сравнению с 30-ми сутками; • $p<0,05$ по сравнению с самками.

Тенденция к уменьшению относительной массы тимуса наблюдалась также у самок контрольной группы (статистически незначимо, рис. 8Б). Рассматриваемый показатель на 30-е сутки постнатального онтогенеза был ниже значения у 21-дневных крыс (на 12,5%), а на 60-е сутки – меньше по сравнению с параметрами на 21-й и 30-й дни (на 27 и 16,5% соответственно).

Следует отметить, что в контрольной группе подсосного возраста масса тимуса самок была на 26,2% ниже по сравнению с таковой у самцов ($p < 0,05$). В более старших возрастных группах статистически значимых половых различий не выявлено, продемонстрирована лишь следующая тенденция: анализируемый параметр у контрольных самок на 30-е сутки был несколько больше (на 9,8%), а на 60-е сутки жизни – меньше (на 5,7%), чем у самцов.

При исследовании характера влияния внутриутробного стресса на состояние тимуса у крыс получены следующие данные (табл. 3). У самцов, подвергнутых стрессорной нагрузке (рис. 8А), относительная масса этого органа на 21-е сутки онтогенеза была на 22,4% меньше, чем у интактных крыс ($p < 0,05$). В последующие периоды жизни обнаружены незначительные, статистически незначимые отличия данного показателя: масса тимуса у пренатально стрессированных самцов на 30-е сутки была больше (на 8,8%), а на 60-е сутки – меньше (на 21,9%) по сравнению с контролем.

У самцов опытной группы в динамике постнатального развития наблюдается снижение относительной массы тимуса: на 30-е сутки жизни данный показатель был несколько меньше, чем у 21-дневных особей (на 17,6%, статистически незначимо), а к 60-м суткам выражено снижался по сравнению со значениями в предыдущие периоды (на 42,5% [$p < 0,01$] и 30,2% [$p < 0,05$] соответственно).

Установлено, что после пренатального стресса у самок относительная масса тимуса в изученные возрастные периоды – на 21-е, 30-е и 60-е сутки жизни – была несколько больше, чем у контрольных животных (на 13,3, 6,2 и 11,7% соответственно, статистически незначимо; рис. 8Б).

Возрастные изменения относительной массы тимуса у внутриутробно стрессированных самок были аналогичны таковым у контрольных особей, а также у самцов опытной группы: на 30-е сутки данный показатель был ниже, чем у 21-дневных животных (на 18,0%, статистически незначимо), а на 60-е сутки жизни – меньше значений на 21-й и 30-й дни (на 28,0% [$p<0,01$] и 12,2% [$p<0,05$] соответственно).

Половые различия массы тимуса, проявляющиеся в превышении данного показателя у пренатально стрессированных самок по сравнению с самцами, выявлены на всех изученных стадиях развития: на 21-е и 30-е сутки (подсосный и инфантильный возраст) – на уровне тенденции – на 7,8 и 7,2% соответственно; на 60-е сутки (ювенильный возраст) – на 35,0% ($p<0,01$).

На следующем этапе работы были изучены особенности относительной массы селезёнки у крыс разных экспериментальных групп (рис. 9, табл. 3).

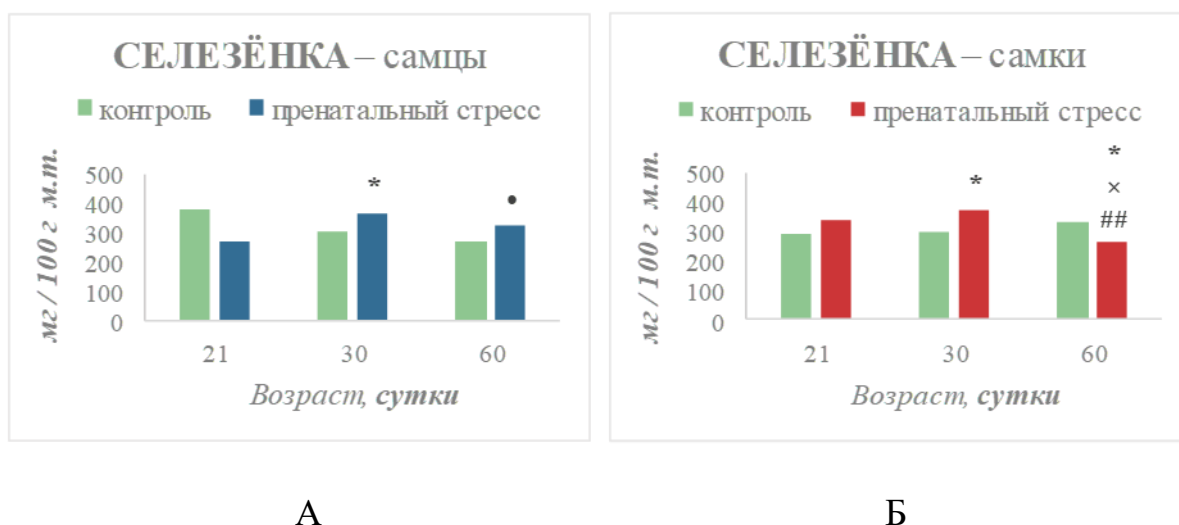


Рисунок 9. Относительная масса селезёнки у интактных и внутриутробно стрессированных самцов (А) и самок (Б) крыс в разные периоды постнатального онтогенеза (мг/100 г массы тела, Ме). * $p<0,05$ по сравнению с контролем (нестрессированные животные); $^x p<0,05$ по сравнению с 21-ми сутками; $^{##} p<0,01$ по сравнению с 30-ми сутками; $^{\bullet} p<0,05$ по сравнению с самками.

У самцов крыс контрольной группы выявлена тенденция к снижению с возрастом относительной массы селезёнки (рис. 9А). Данный показатель на 30-й день жизни был меньше, чем у 21-суточных животных (на 21,0%). В возрасте 60

суток масса селезёнки у интактных самцов была несколько ниже таковой у 21-дневных и 30-дневных крыс – на 29,0 и 10,1% соответственно. Однако указанные отличия не достигали уровня статистической значимости.

Интактные самки крыс, наоборот, характеризовались прогрессивным увеличением относительной массы селезёнки: от 21-го к 30-му (на 1,8%), а далее к 60-му дню развития (по сравнению с указанными выше периодами – на 13,6 и 11,6% соответственно; рис. 9Б). Выявленные различия не были статистически достоверны.

Статистически значимые половые различия относительной массы селезёнки у интактных животных не обнаружены. У самок на 21-е и 30-е сутки жизни анализируемый показатель был незначительно меньше (на 23,6 и 1,7% соответственно), а на 60-е сутки – больше, чем у самцов (на 22,1%).

В дальнейшем было исследовано влияние внутриутробного стресса на состояние селезёнки у животных разного пола и возраста (табл. 3).

Обнаружено, что после пренатального стресса относительная масса селезёнки у самцов на 21-е сутки жизни меньше, чем у интактных особей (на 28,9%, статистически незначимо; рис. 9А). В последующем анализируемый показатель у стрессированных самцов превышал контрольные значения: на 30-е сутки развития – на 21,2% ($p<0,05$), на 60-е сутки – на 20,0% (статистически незначимо).

Масса селезёнки у самцов животных, подвергнутых внутриутробному стрессу, несколько возрастала на 30-е сутки постнатального развития (на 35,0% по сравнению с предыдущим периодом), но снижалась к 60-му дню жизни (на 11,0% по сравнению с 30-дневными особями). Данные колебания не были статистически достоверны.

После внутриутробной стрессорной нагрузки относительная масса селезёнки у самок крыс на 21-е и 30-е сутки жизни была больше (на 16,6% [статистически незначимо] и 25,0% [$p<0,05$] соответственно), а на 60-е сутки – меньше (на 20,4%, $p<0,05$) по сравнению с контрольным уровнем (рис. 9Б).

У пренатально стрессированных самок к 30-м суткам жизни выявлено незначительное увеличение относительной массы селезёнки по сравнению с показателями у 21-дневных животных (на 9,1%, статистически незначимо). Анализируемый параметр у 60-суточных самок, перенёсших внутриутробный стресс, был меньше, чем на 21-й и 30-й дни онтогенеза: на 22,5% ($p<0,05$) и 29% ($p<0,01$) соответственно.

У животных подсосного и инфантильного возраста, подвергнутых пренатальному стрессу, половые различия относительной массы селезёнки не были статистически достоверны: у самок на 21-е сутки развития данный параметр был несколько больше (на 25,4%), а на 30-е сутки – меньше, чем у самцов (на 28,0%). Значимые отличия массы селезёнки, проявляющиеся в меньшем показателе у самок по сравнению с самцами (на 19,1%, $p<0,05$), обнаружены в ювенильном возрасте – на 60-е сутки жизни.

Таким образом, внутриутробный стресс плавания материнских особей в холодной воде с 10-го по 16-й день беременности сопровождается инволюцией тимуса у самцов крыс в ранний период развития – на 21-е сутки (подсосный возраст). В указанных экспериментальных условиях у потомства обоих полов в инфантильный возраст – 30-е сутки жизни – выявлена гипертрофия селезёнки. В отличие от самцов, самки крыс, подвергнутые пренатальной стрессорной нагрузке, характеризуются инволюцией селезёнки на 60-е сутки постнатального развития – ювенильные животные.

Таблица 3. Числовые значения массы иммунокомпетентных органов самцов и самок крыс разных экспериментальных групп (мг / 100 г массы тела; Me (Q1; Q3))

ГРУППА, №	ПОЛ	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ	ВОЗРАСТ, сутки	ТИМУС	СЕЛЕЗЁНКА
I	Самцы	Контроль	21-е	462,25 (394,20; 514,10) •	380,75 (316,35; 441,80)
II			30-е	271,75 (230,45; 286,25) ^{xxx}	301,45 (283,80; 339,30)
III			60-е	264,15 (245,80; 293,35) ^{xxx}	270,85 (248,75; 310,35)
IV		Пренатальный стресс	21-е	358,75 (297,40; 420,40) *	270,75 (254,20; 387,05)
V			30-е	295,65 (254,40; 310,80)	365,45 (318,15; 409,50) *
VI			60-е	206,20 (179,80; 250,65) • ^{xx#}	325,25 (286,70; 334,70) •
VII	Самки	Контроль	21-е	341,15 (289,95; 418,60)	291,00 (232,85; 347,15)
VIII			30-е	298,50 (251,30; 326,35)	296,15 (248,45; 364,35)
IX			60-е	249,10 (234,40; 303,10)	330,60 (267,70; 358,80)
X		Пренатальный стресс	21-е	386,65 (320,50; 418,45)	339,45 (264,70; 407,85)
XI			30-е	316,95 (288,65; 333,35)	370,30 (308,45; 408,00) *
XII			60-е	278,35 (252,80; 292,60) ^{xx#}	263,15 (218,40; 283,70) * ^{x##}

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (нестрессированные животные); ^x $p < 0,05$, ^{xx} $p < 0,01$ и ^{xxx} $p < 0,001$ по сравнению с 21-ми сутками; [#] $p < 0,05$ и ^{##} $p < 0,01$ по сравнению с 30-ми сутками; • $p < 0,05$ по сравнению с самками.

4.3. Концентрация цитокинов в сыворотке периферической крови после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза

В данном разделе изложены результаты иммуноферментного анализа некоторых показателей цитокинового профиля сыворотки периферической крови – уровня ФНО- α и ИЛ-10 – у крыс разного пола и возраста, подвергнутых пренатальному стрессу на модели принудительного плавания материнских особей в холодной воде (Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., 2021а; Субботина А.Ю. и др., 2022б; Субботина А.Ю. и др., 2022в; Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., 2022е).

Полученные данные представлены графически на рисунках 10 и 11, а также в виде числовых значений в таблице 4.

В начале исследования проанализирован уровень провоспалительного цитокина – ФНО- α – в крови потомства крыс разных экспериментальных групп (рис. 10, табл. 4).



А

Б

Рисунок 10. Концентрация ФНО- α в сыворотке периферической крови у интактных и внутриутробно стрессированных самцов (А) и самок (Б) крыс в разные периоды постнатального онтогенеза (пг/мл, Ме). * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (нестрессированные животные); ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ по сравнению с 21-ми сутками; # $p < 0,01$ по сравнению с 30-ми сутками; • $p < 0,05$ по сравнению с самками.

У интактных самцов крыс выявлено снижение концентрации ФНО- α в периферической крови к 30-м суткам жизни по сравнению с показателями 21-дневных животных (на 52,1%, статистически недостоверно; рис. 10А). Содержание цитокина у животных этой группы в ювенильном возрасте (60-е сутки) было меньше, чем у подсосных и инфантильных особей (21-е и 30-е сутки): на 74,4% ($p<0,001$) и 46,6% ($p<0,01$) соответственно.

Аналогичные возрастные изменения уровня ФНО- α в крови выявлены у самок интактных групп: концентрация данного цитокина на 30-е и 60-е сутки жизни была меньше, чем у 21-дневных животных – на 69,4% ($p<0,01$) и 62,9% ($p<0,01$) соответственно (рис. 10Б).

Половые отличия содержания ФНО- α в сыворотке крови обнаружены у контрольных животных инфантильного возраста (30-й день жизни): данный показатель у самок был на 46,3% ($p<0,05$) меньше, чем у самцов. Уровень анализируемого цитокина у самок крыс на 21-е сутки жизни был несколько меньше (на 16,0%), а на 60-е сутки – больше (на 21,8%) по сравнению с таковым у самцов. Однако эти различия не были статистически значимы.

При изучении влияния материнского стресса на содержание ФНО- α в периферической крови потомства крыс разного пола и возраста получены следующие данные (рис. 10, табл. 4).

Обнаружено, что у самцов, перенёсших внутриутробный стресс, на 21-е и 30-е сутки жизни концентрации ФНО- α ниже показателей у интактных особей (на 52,1 и 5,8% соответственно, статистически незначимо; рис. 10А). Однако у крыс опытной группы на 60-е сутки постнатального развития – ювенильный возраст – содержание данного цитокина в 2 раза превышало контрольный уровень ($p<0,05$). В отличие от интактных животных, у пренатально стрессированных самцов возрастные колебания уровня ФНО- α в сыворотке крови практически отсутствовали.

Установлено, что после пренатальной стрессорной нагрузки у самок концентрация ФНО- α в крови на 21-е сутки жизни была меньше (на 57%), а на 30-

е сутки – больше (на 83,7%) по сравнению с таковой у интактных особей (статистически незначимо; рис. 10Б). Однако в ювенильном возрасте (60-е сутки) содержание данного цитокина у самок опытной группы выражено превышало контрольный уровень на 91,7% ($p<0,05$).

В отличие от интактных особей, у пренатально стрессированных самок обнаружен постепенный рост концентрации ФНО- α в сыворотке крови от 21-х к 30-м суткам жизни (на 31,0%, статистически незначимо) с достижением наивысшего уровня в ювенильном возрасте (по сравнению с 21- [на 65,7%, статистически незначимо] и 30-дневными крысами [на 26,6%, $p<0,01$]).

После внутриутробного стресса половые отличия содержания ФНО- α выявлены в ювенильном возрасте – 60-е сутки жизни: этот параметр у самок был на 16,3% ($p<0,05$) больше, чем у самцов. В предыдущие возрастные периоды данные отличия не были статистически достоверны: на 21-е сутки развития концентрация цитокина у самок была меньше (на 24,7%), а на 30-е сутки – незначительно больше (на 4,6%) по сравнению с таковой у самцов.

В дальнейшем был проведён анализ характера изменений концентрации противовоспалительного цитокина – ИЛ-10 – в сыворотке крови животных после пренатального стресса (рис. 11, табл. 4).

Выявлено, что у интактных самцов уровень ИЛ-10 в крови снижается от 21-х к 30-м суткам жизни (на 52,2%, статистически незначимо), достигая наименьшего значения в ювенильном возрасте по сравнению с указанными выше возрастными стадиями (на 99,3 и 98,5% соответственно, $p<0,01$; рис. 11А).

Аналогичная закономерность обнаружена у самок контрольной группы (рис. 11Б). Концентрация цитокина у этих крыс в инфантильном возрасте была на 79,0% меньше, чем у 21-дневных особей (статистически незначимо). К 60-м суткам развития – ювенильный возраст – содержание ИЛ-10 в крови у интактных самок снижалось на 99,5 и 97,7% по сравнению со значениями у 21- и 30-дневных животных соответственно ($p<0,05$).

Статистически значимые половые различия уровня ИЛ-10 в крови интактных крыс выявлены только на 60-й день жизни: данный показатель у самок был на 18,6% выше, чем у самцов ($p<0,05$). В предыдущие периоды наблюдалась следующая тенденция: уровень цитокина у самок на 21-е сутки жизни был на 79,4% выше, а на 30-е сутки – на 21,2% ниже, чем у самцов.



А

Б

Рисунок 11. Концентрация ИЛ-10 в сыворотке периферической крови у интактных и внутриутробно стрессированных самцов (А) и самок (Б) крыс в разные периоды постнатального онтогенеза (пг/мл, Ме). $^*p<0,05$, $^{**}p<0,01$ по сравнению с 21-ми сутками; $^{\#}p<0,05$ и $^{##}p<0,01$ по сравнению с 30-ми сутками; $^{\bullet}p<0,05$ по сравнению с самками.

Установлено, что внутриутробный стресс не приводит к достоверным изменениям концентрации ИЛ-10 в периферической крови крыс (табл. 4). На 21-е и 30-е сутки постнатального развития данный показатель у животных опытных групп был меньше, чем у интактных особей: у самцов – на 78,8 и 31,5% соответственно (рис. 11А); у самок – на 73 и 31,8% соответственно (рис. 13Б). В ювенильном возрасте – 60-е сутки жизни – содержание ИЛ-10 у животных, подвергнутых пренатальному стрессорному воздействию, было больше, чем у контрольных крыс (статистически незначимо).

Статистически значимые возрастные колебания концентрации ИЛ-10 в крови внутриутробно стрессированных особей не обнаружены. У самцов этот показатель к 30-м суткам развития превышал значение на предыдущей стадии (на 54,2%), но снижался на 60-й день жизни (на 45,8 и 64,9% по сравнению с

подсосным и инфантильным возрастами соответственно). В отличие от самцов, у самок после пренатального стресса выявлена тенденция к постепенному снижению содержания ИЛ-10 в сыворотке крови от 21-го к 30-му (на 47%) и далее – к 60-му дню постнатального развития (на 54,3 и 13,8% соответственно по сравнению с указанными выше периодами).

Достоверные половые различия содержания ИЛ-10 в периферической крови после внутриутробного стресса также не обнаружены. Анализируемый показатель у самок в возрасте 21 и 60 суток был больше (на 128,1 и 92,3% соответственно), а 30 суток – меньше (на 21,6%), чем у самцов.

Таким образом, пренатальный стресс на модели принудительного плавания материнских особей в холодной воде сопровождается увеличением концентрации провоспалительного цитокина ФНО- α в периферической крови самцов и самок животных в ювенильном возрасте (60-е сутки жизни) по сравнению с показателями у интактных крыс. Внутриутробная стрессорная нагрузка у самцов нивелирует наблюдающееся в норме возрастное снижение содержания ФНО- α , а у самок – наоборот, приводит к постепенному повышению его уровня от подсосного (21-е сутки) к инфантильному возрасту (30-е сутки) с достижением наивысшего значения у ювенильных особей. Пренатальное воздействие изменяет время проявления и характер половых различий концентрации ФНО- α в крови: если в норме данный показатель больше у самцов инфантильного возраста, то после стрессорной нагрузки – у самок в ювенильном возрасте.

Внутриутробное стрессорное воздействие не влияет на концентрацию противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в сыворотке периферической крови самцов и самок крыс по сравнению с таковой у интактных животных, но сглаживает выявленное в условиях нормы возрастное снижение его уровня с наименьшим значением в ювенильном возрасте (60-е сутки жизни).

Таблица 4. Числовые значения концентрации ФНО- α и ИЛ-10 самцов и самок крыс разных экспериментальных групп (пг / мл; Me (Q1; Q3))

ГРУППА, №	ПОЛ	ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ	ВОЗРАСТ, сутки	ФНО- α	ИЛ-10
I	Самцы	Контроль	21-е	124,20 (68,16; 240,22)	269,05 (230,95; 566,66)
II			30-е	59,50 (52,65; 122,47) [•]	128,57 (54,76; 256,50)
III			60-е	31,79 (23,86; 41,32) ^{xxx ##}	1,93 (1,78; 2,08) ^{•xxx ##}
IV		Пренатальный стресс	21-е	59,50 (52,58; 72,23)	57,14 (26,58; 141,66)
V			30-е	56,04 (54,31; 69,03)	88,09 (30,95; 92,86)
VI			60-е	63,83 (54,31; 70,76) ^{• *}	30,95 (11,90; 88,09)
VII	Самки	Контроль	21-е	104,26 (59,56; 134,59)	482,82 (294,50; 623,81)
VIII			30-е	31,92 (30,06; 73,38) ^{xx}	101,33 (40,77; 167,70)
IX			60-е	38,72 (35,26; 54,31) ^{xx}	2,29 (2,09; 2,38) ^{x #}
X		Пренатальный стресс	21-е	44,78 (30,77; 75,68)	130,34 (60,68; 263,68)
XI			30-е	58,64 (52,58; 65,56)	69,05 (30,95; 88,09)
XII			60-е	74,22 (70,76; 88,94) ^{*##}	59,52 (50,00; 123,50)

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем (нестрессированные животные); $^x p < 0,05$, $^{xx} p < 0,01$ и $^{xxx} p < 0,001$ по сравнению с 21-ми сутками; $^{\#} p < 0,05$ и $^{##} p < 0,01$ по сравнению с 30-ми сутками; $^{\bullet} p < 0,05$ по сравнению с самками.

4.4. Корреляционный анализ ноцицептивных и иммунных показателей после внутриутробной стрессорной нагрузки у самцов и самок крыс в разные периоды постнатального онтогенеза

В разделе представлены данные, полученные в ходе корреляционного анализа внутригрупповых связей между анализируемыми физиологическими показателями у крыс в различные периоды постнатального онтогенеза после внутриутробного стресса (Субботина А.Ю. и др., 2022д). Изученные параметры у потомства животных оценивали на 21-е, 30-е и 60-е сутки жизни. Контролем служили интактные особи, не подвергнутые пренатальному стрессу.

Корреляционные матрицы представлены схематично на рисунках 12 и 13, а также в таблицах 5 – 6. С целью построения матриц использованы следующие числовые данные: показатели ноцицептивной чувствительности – ЛПРОХ и ПВ; относительная масса иммунокомпетентных органов – тимуса и селезёнки; концентрация цитокинов в сыворотке периферической крови – ФНО- α и ИЛ-10.

Положительные (прямые) и отрицательные (обратные) корреляции между рассматриваемыми параметрами определяли с применением теста Спирмена; статистическая значимость – $p < 0,05$.

Изначально выполнен анализ на наличие возможных взаимосвязей между физиологическими показателями у интактных крыс разного возраста, не подвергнутых внутриутробной стрессорной нагрузке.

У самцов контрольной группы (рис. 12А, табл. 5) на 21-е сутки жизни наблюдались положительные корреляции между относительной массой тимуса и селезёнки ($r = 0,78$, $p < 0,05$), а также между концентрацией ИЛ-10 и ФНО- α в периферической крови ($r = 0,89$, $p < 0,05$). В последующие периоды онтогенеза у этих животных выявлены взаимосвязи между относительной массой тимуса и ЛПРОХ в ответ на ноцицептивное воздействие: прямые – на 30-е сутки ($r = 0,88$, $p < 0,05$), обратные – на 60-е сутки жизни ($r = -0,74$, $p < 0,05$).

В ходе анализа взаимосвязей у интактных самок, не подвергнутых внутриутробному стрессу (рис. 13А, табл. 6), отрицательные корреляции

относительной массы тимуса с концентрацией цитокинов в крови – ИЛ-10 и ФНО- α – обнаружены в ранний период развития на 21-е сутки жизни ($r = -0,83$, $p < 0,05$). У крыс более старшего возраста – 30-е и 60-е сутки онтогенеза – корреляционные связи между изученными параметрами отсутствовали.

В последующем были изучены взаимосвязи между анализируемыми показателями у животных после пренатального стрессорного воздействия.

В ранний период постнатального развития у стрессированных самцов корреляции между рассматриваемыми параметрами не обнаружены (рис. 12Б, табл. 5). У крыс старших возрастных групп выявлены взаимосвязи концентрации ФНО- α в периферической крови: обратные – с относительной массой тимуса на 30-е сутки ($r = -0,85$, $p < 0,05$), прямые – с относительной массой селезёнки на 60-е сутки жизни ($r = 0,89$, $p < 0,05$).

У самок животных, подвергнутых внутриутробному стрессу, на 21-е сутки развития наблюдалась только одна положительная корреляция между относительной массой тимуса и селезёнки ($r = 0,93$, $p < 0,05$; рис. 13Б, табл. 6). Взаимосвязи между изученными параметрами у самок соответствующих экспериментальных групп на 30-е и 60-е сутки жизни не обнаружены.

Таким образом, потомство крыс контрольной группы характеризуется корреляциями между иммунными показателями (концентрацией цитокинов в крови и массой иммунокомпетентных органов) в ранний период онтогенеза на 21-е сутки жизни: самцы – положительными, самки – отрицательными. В отличие от самок, у самцов выявлена взаимосвязь между ноцицептивными и иммунными параметрами, знак которой меняется в динамике постнатального развития: прямая – на 30-е сутки, обратная – на 60-е сутки.

Пренатальный стресс плавания в холодной воде сопровождается изменением характера взаимосвязей между изученными показателями у крыс в разные периоды онтогенеза. В отличие от интактных, у внутриутробно

стрессированных самок подсосного возраста наблюдается положительная корреляция между массой тимуса и селезёнки. Выявленные в норме у самцов на 21-е сутки жизни связи между иммунными индексами, а также корреляции ноцицептивных и иммунологических параметров на более поздних стадиях развития не обнаружены после пренатальной стрессорной нагрузки. Внутривутробный стресс у самцов приводит к появлению отсутствующих у интактных особей корреляций между иммунными показателями в инфантильном (отрицательной: масса тимуса $\leftrightarrow$ уровень ФНО- α) и ювенильном возрастах (положительной: масса селезёнки $\leftrightarrow$ уровень ФНО- α).

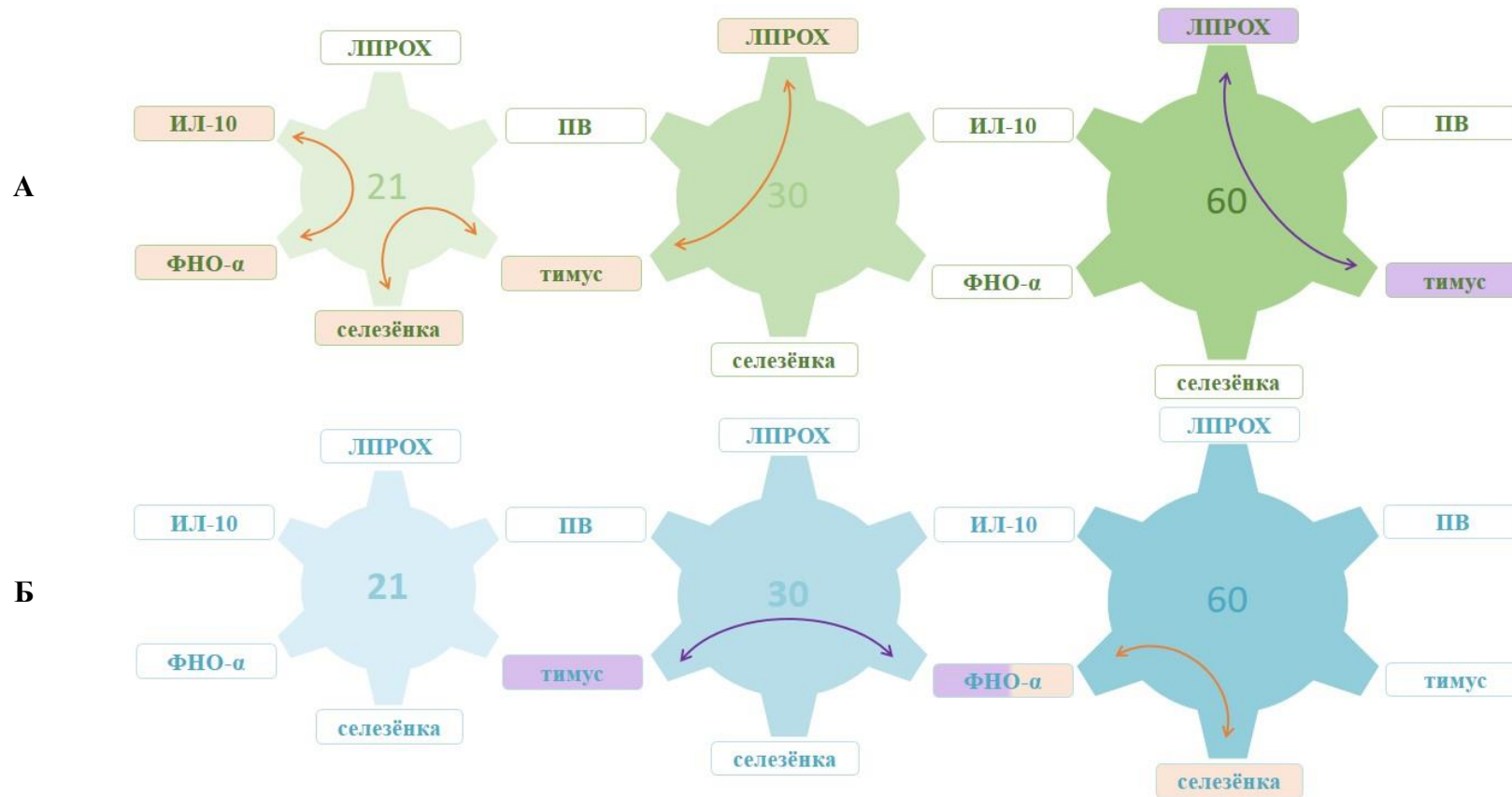


Рисунок 12. Корреляционные связи показателей ноцицептивной чувствительности (ЛПРОХ, ПВ), относительной массы иммунокомпетентных органов (тимус, селезёнка) и концентрации цитокинов в сыворотке периферической крови (ФНО- α и ИЛ-10) у интактных (А) и внутриутробно стрессированных (Б) самцов крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки жизни. Оранжевые стрелки – положительные корреляции при $p < 0,05$, фиолетовые стрелки – отрицательные корреляции при $p < 0,05$.

Таблица 5. Корреляционная матрица физиологических показателей у самцов крыс разных экспериментальных групп

КОНТРОЛЬ							ВОЗРАСТ	ПРЕНАТАЛЬНЫЙ СТРЕСС						
САМЦЫ														
	ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-α	ИЛ-10	21		ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-α	ИЛ-10
ЛПРОХ	1,000000	-0,110632	-0,455098	-0,359288	0,144150	0,144150		ЛПРОХ	1,000000	0,378985	0,227549	0,586837	0,285714	0,200000
ПВ	-0,110632	1,000000	0,398647	0,068732	-0,358569	-0,358569		ПВ	0,378985	1,000000	0,370337	-0,063851	0,168408	0,316228
тимус	-0,455098	0,398647	1,000000	0,785714	-0,142857	-0,285714		тимус	0,227549	0,370337	1,000000	-0,119048	-0,500000	0,800000
селезёнка	-0,359288	0,068732	0,785714	1,000000	-0,107143	-0,428571		селезёнка	0,586837	-0,063851	-0,119048	1,000000	0,500000	0,800000
ФНО-α	0,144150	-0,358569	-0,142857	-0,107143	1,000000	0,892857		ФНО-α	0,285714	0,168408	-0,500000	0,500000	1,000000	0,000000
ИЛ-10	0,144150	-0,358569	-0,285714	-0,428571	0,892857	1,000000		ИЛ-10	0,200000	0,316228	0,800000	0,800000	0,000000	1,000000
	ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-α	ИЛ-10	30		ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-α	ИЛ-10
ЛПРОХ	1,000000	-0,076102	0,880952	0,095238	-0,607143	-0,178571		ЛПРОХ	1,000000	-0,687440	0,095238	-0,142857	0,378394	-0,300000
ПВ	-0,076102	1,000000	-0,253673	0,114153	-0,407687	-0,741249		ПВ	-0,687440	1,000000	0,000000	0,061379	-0,243086	0,670820
тимус	0,880952	-0,253673	1,000000	-0,047619	-0,357143	0,107143		тимус	0,095238	0,000000	1,000000	0,238095	-0,846881	-0,200000
селезёнка	0,095238	0,114153	-0,047619	1,000000	-0,642857	-0,321429		селезёнка	-0,142857	0,061379	0,238095	1,000000	-0,612637	-0,200000
ФНО-α	-0,607143	-0,407687	-0,357143	-0,642857	1,000000	0,571429		ФНО-α	0,378394	-0,243086	-0,846881	-0,612637	1,000000	0,200000
ИЛ-10	-0,178571	-0,741249	0,107143	-0,321429	0,571429	1,000000		ИЛ-10	-0,300000	0,670820	-0,200000	-0,200000	0,200000	1,000000
	ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-α	ИЛ-10	60		ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-α	ИЛ-10
ЛПРОХ	1,000000	0,012599	-0,738095	-0,285714	-0,321429	0,210819		ЛПРОХ	1,000000	-0,125157	0,190476	-0,404762	-0,750000	-0,500000
ПВ	0,012599	1,000000	0,062994	0,478755	0,283473	-0,235702		ПВ	-0,125157	1,000000	-0,475595	0,150188	0,243256	-0,500000
тимус	-0,738095	0,062994	1,000000	0,380952	-0,142857	-0,737865		тимус	0,190476	-0,475595	1,000000	0,500000	0,214286	0,500000
селезёнка	-0,285714	0,478755	0,380952	1,000000	0,285714	-0,316228		селезёнка	-0,404762	0,150188	0,500000	1,000000	0,892857	0,500000
ФНО-α	-0,321429	0,283473	-0,142857	0,285714	1,000000	0,948683		ФНО-α	-0,750000	0,243256	0,214286	0,892857	1,000000	1,000000
ИЛ-10	0,210819	-0,235702	-0,737865	-0,316228	0,948683	1,000000		ИЛ-10	-0,500000	-0,500000	0,500000	0,500000	1,000000	1,000000

Примечание. ЛПРОХ – латентный период реакции отведения хвоста в ответ на светотермальное раздражение; ПВ – порог вокализации при электрокожном раздражении хвоста; тимус – относительная масса тимуса; селезёнка – относительная масса селезёнки; ФНО-α – концентрация фактора некроза опухоли-α в сыворотке периферической крови; ИЛ-10 – концентрация интерлейкина-10 в сыворотке периферической крови.

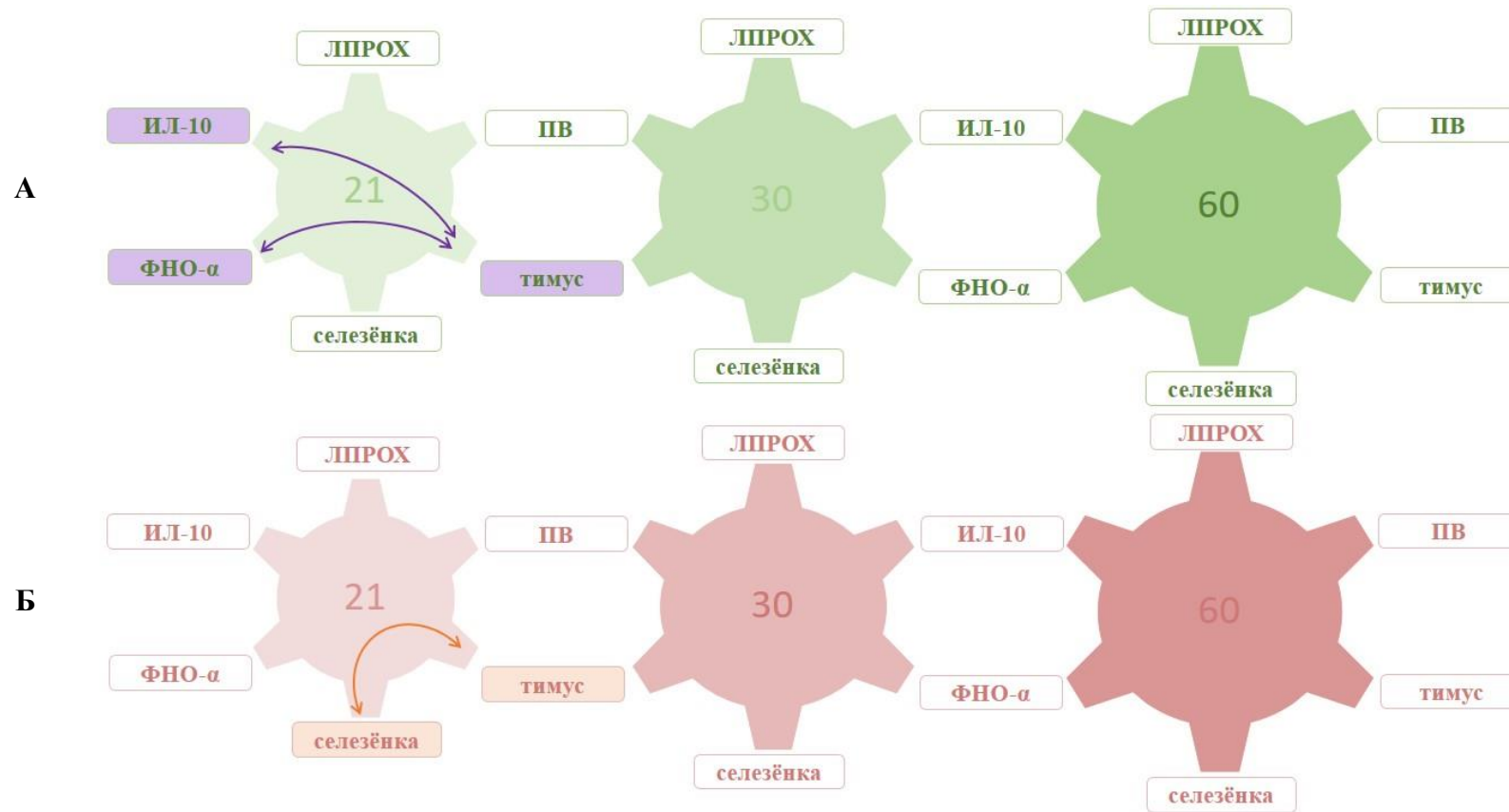


Рисунок 13. Корреляционные связи показателей ноцицептивной чувствительности (ЛПРОХ, ПВ), относительной массы иммунокомпетентных органов (тимус, селезёнка) и концентрации цитокинов в сыворотке периферической крови (ФНО- α и ИЛ-10) у интактных (А) и внутриутробно стрессированных (Б) самок крыс на 21-е, 30-е и 60-е сутки жизни. Оранжевые стрелки – положительные корреляции при $p < 0,05$, фиолетовые стрелки – отрицательные корреляции при $p < 0,05$.

Таблица 6. Корреляционная матрица физиологических показателей у самок крыс разных экспериментальных групп

КОНТРОЛЬ							ВОЗРАСТ	ПРЕНАТАЛЬНЫЙ СТРЕСС						
САМКИ														
	ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-а	ИЛ-10	21		ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-а	ИЛ-10
ЛПРОХ	1,000000	-0,243975	0,333333	0,285714	0,028571	0,028571		ЛПРОХ	1,000000	-0,185312	-0,285714	-0,142857	0,214286	0,800000
ПВ	-0,243975	1,000000	0,048795	-0,243975	-0,617914	-0,617914		ПВ	-0,185312	1,000000	0,592999	0,592999	-0,518875	-0,400000
тимус	0,333333	0,048795	1,000000	0,238095	-0,828571	-0,828571		тимус	-0,285714	0,592999	1,000000	0,928571	-0,428571	0,200000
селезёнка	0,285714	-0,243975	0,238095	1,000000	-0,771429	-0,771429		селезёнка	-0,142857	0,592999	0,928571	1,000000	-0,500000	0,400000
ФНО-а	0,028571	-0,617914	-0,828571	-0,771429	1,000000	1,000000		ФНО-а	0,214286	-0,518875	-0,428571	-0,500000	1,000000	0,200000
ИЛ-10	0,028571	-0,617914	-0,828571	-0,771429	1,000000	1,000000		ИЛ-10	0,800000	-0,400000	0,200000	0,400000	0,200000	1,000000
	ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-а	ИЛ-10	30		ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-а	ИЛ-10
ЛПРОХ	1,000000	-0,012123	0,547619	0,142857	0,178571	-0,400000		ЛПРОХ	1,000000	-0,433013	-0,392857	-0,714286	0,180187	0,178571
ПВ	-0,012123	1,000000	0,193971	-0,642530	0,436436	-0,400000		ПВ	-0,433013	1,000000	-0,288675	-0,144338	-0,291288	-0,577350
тимус	0,547619	0,193971	1,000000	0,547619	0,178571	-0,200000		тимус	-0,392857	-0,288675	1,000000	0,607143	0,126131	0,464286
селезёнка	0,142857	-0,642530	0,547619	1,000000	-0,392857	-0,200000		селезёнка	-0,714286	-0,144338	0,607143	1,000000	-0,288300	0,178571
ФНО-а	0,178571	0,436436	0,178571	-0,392857	1,000000	0,400000		ФНО-а	0,180187	-0,291288	0,126131	-0,288300	1,000000	-0,306319
ИЛ-10	-0,400000	-0,400000	-0,200000	-0,200000	0,400000	1,000000		ИЛ-10	0,178571	-0,577350	0,464286	0,178571	-0,306319	1,000000
	ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-а	ИЛ-10	60		ЛПРОХ	ПВ	тимус	селезёнка	ФНО-а	ИЛ-10
ЛПРОХ	1,000000	0,38188	-0,071429	-0,357143	-0,178571	-0,50000		ЛПРОХ	1,000000	0,000000	-0,250000	0,142857	0,714286	-0,085714
ПВ	0,381881	1,00000	0,381881	0,327327	0,327327	-1,00000		ПВ	0,000000	1,000000	0,692345	-0,243256	-0,411665	-0,088273
тимус	-0,071429	0,38188	1,000000	0,214286	0,571429	0,50000		тимус	-0,250000	0,692345	1,000000	-0,071429	-0,714286	-0,028571
селезёнка	-0,357143	0,32733	0,214286	1,000000	0,107143	-0,50000		селезёнка	0,142857	-0,243256	-0,071429	1,000000	0,500000	0,428571
ФНО-а	-0,178571	0,32733	0,571429	0,107143	1,000000	1,00000		ФНО-а	0,714286	-0,411665	-0,714286	0,500000	1,000000	0,085714
ИЛ-10	-0,500000	-1,00000	0,500000	-0,500000	1,000000	1,00000		ИЛ-10	-0,085714	-0,088273	-0,028571	0,428571	0,085714	1,000000

Примечание. ЛПРОХ – латентный период реакции отведения хвоста в ответ на светотермальное раздражение; ПВ – порог вокализации при электрокожном раздражении хвоста; тимус – относительная масса тимуса; селезёнка – относительная масса селезёнки; ФНО-а – концентрация фактора некроза опухоли-а в сыворотке периферической крови; ИЛ-10 – концентрация интерлейкина-10 в сыворотке периферической крови.

5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования, посвящённые изучению влияния материнского стресса в период беременности на физиологическое развитие потомства, приобретают всё большую актуальность в условиях современной действительности. В настоящее время особое внимание специалистов медико-биологического профиля уделяется изучению характера влияния условий внутриутробного развития на особенности постнатального онтогенеза млекопитающих.

Как известно, стрессорные воздействия на организм матери во время беременности, оказывают отрицательное влияние на формирование и развитие будущего поколения (Lesage J., 2004). Материнский стресс вызывает долгосрочные изменения и нарушения в развитии гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси у потомства (Губарева Л.И., 2021; Henry C. *et al.*, 1994). На ранних стадиях беременности вплоть до окончания периода основного органогенеза (15 – 16-й день внутриутробного развития; Соколова Н.А. и др., 2016) перенесённый самкой стресс проявляется у неполовозрелого потомства крыс повышением болевой чувствительности (Беляева Л.Е. и др., 2015). Дефицит серотонина у плодов в период формирования тимуса приводит к долгосрочным необратимым изменениям в функционировании иммунной Т-системы (Лифанцева Н.В. и др., 2020). Пренатальный дефицит моноаминов или гонадотропин-рилизинг гормона сопровождается необратимыми нарушениями в развитии тимуса у потомства, а у половозрелых животных – нарушениями гуморального и клеточного иммунитета (Захарова Л.А., 2017). Воздействие различных стрессоров на организм в критические периоды развития нейроэндокринной и иммунной систем изменяет эпигенетические механизмы регуляции специфических генов, что может привести к нарушениям функций этих систем у потомства (Zakharova L.A., 2019).

Несмотря на значительное число научных работ, посвящённых изучению постстрессорных расстройств у млекопитающих, многие вопросы этой области ещё недостаточно изучены. Особенности колебаний разных компонентов

ноцицепции у внутриутробно стрессированных самцов и самок на различных стадиях постнатального онтогенеза, иммунные механизмы, лежащие в основе изменения болевой чувствительности млекопитающих после внутриутробного стресса, половые и возрастные особенности связей между ноцицептивными и иммунологическими показателями остаются мало исследованными.

Целью нашего исследования явилось изучение изменений разных компонентов ноцицептивных реакций и иммунных параметров у крыс различного пола и возраста после пренатальной стрессорной нагрузки.

Прежде чем начать обсуждение полученных результатов, кратко остановимся на обосновании модели стресса, выбранной для нашего экспериментального исследования.

В качестве модели пренатальной стрессорной нагрузки использовали погружение самки с 10-го по 16-й день беременности в холодную воду при температуре 10°C на 5 минут (Hamm R.J., Knisely J.S., 1987).

Указанная модель стрессорного воздействия широко используется в экспериментальных исследованиях при изучении болевой чувствительности животных (Bodnar R.J. *et al.*, 1978), эндокринных функций (Welker H.A., Vollrath L., 1984), а также характера влияния стресса на эндогенную неопиоидную гормонально опосредованную анальгетическую систему (Hamm R.J., Knisely J.S., 1987).

Изучение влияния патогенных факторов на зародыш на разных стадиях эмбриогенеза показало, что существуют периоды развития, когда организм наиболее восприимчив к воздействию повреждающих агентов. Один из таких периодов – начало основного органогенеза, то есть 9 – 10-е сутки после оплодотворения (Соколова Н.А. и др., 2016). Результаты работ ряда авторов позволяют высказать предположение о том, что повреждения, формирующиеся именно в начальный период до завершения основного органогенеза (15 – 16-й дни развития), приводят к порокам развития, гибели зародышей, врождённым заболеваниям и анатомическим нарушениям у плода.

Выбор периодов наблюдения и регистрации физиологических показателей в нашем эксперименте обусловлен сведениями о специфике данных возрастов и результатами ранее проведённых исследований в области изучения влияния материнского стресса на организм потомства. В том числе, учитывались физиологические, анатомические и другие данные об индивидуальном развитии крыс, поскольку важность этих критериев нашла убедительные подтверждения (Sengupta P., 2013).

Так, у животных подсосного возраста обнаруживается функциональная активность дистантных рецепторов, наблюдается развитие разных сенсорно-двигательных рефлексов (Дыбан А.П., 1985). Именно поэтому исследование ноцицепции методом Tail-flick возможно уже на 15-й день жизни крысят (Hamm R.J. *et al.*, 1990). Эндогенная неопиоидная гормонально-опосредованная ноцицептивная система является относительно быстро развивающейся – к 10-му дню жизни крыс она функционирует уже на зрелом уровне (Hamm R.J., Knisely J.S., 1987), а в 15-дневном возрасте крысята реагируют на острое и хроническое стрессорное воздействие (погружение в холодную воду) изменениями ноцицептивных реакций так же, как взрослые особи (Hamm R.J. *et al.*, 1990).

К 21-м суткам жизни у крыс происходит эволюционная реорганизация пищевого поведения, а именно переход на самостоятельное дефинитивное питание (Sengupta P., 2013), заканчивается формирование вегетативной нервной системы (Соколова Н.А. и др., 2016). Известно, что в селезёнке 21-дневных крыс число В-клеток сопоставимо с показателями взрослых животных, а количество Т-клеток меньше, чем у особей старшего возраста (Holsapple M.P. *et al.*, 2003). Отмечается, что динамичное развитие иммунной системы, и прежде всего, селезёнки начинается у крыс с 4-й недели жизни (Чернов Д.А., 2018); к началу 5-й недели продолжается её функциональное созревание, сопровождающееся соответствующими структурными перестройками (Мураева Н.А., 2006).

Инфантильные крысята находятся на этапе полового созревания, для которого характерна высокая активность иммунной системы (Симонова Е.Ю., 2013). Развитие половых функций у самцов происходит раньше, чем у самок

(Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., 2001). Однако к 30-м суткам крысята ещё неполовозрелые (Западнюк И.П. и др., 1983), в организме продолжают процессы роста и развития (Дыбан А.П., 1985).

Считается, что к 60-м суткам жизни крысы достигают половой зрелости (Sengupta P., 2013). Как показывает множество исследований, именно в этот период иммунная система достигает своей зрелости и высокой функциональной активности (Кузнецов А.П. и др., 2015; Косырева А.М., 2016; Suckow M.A. *et al.*, 2005). Например, после наступления полового созревания в тимусе происходят процессы инволюции и атрофические изменения, которые отражаются на функционировании органа: продемонстрировано снижение продукции тимозина и абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов в периферической крови, увеличение супрессорной активности лимфоцитов (Кузнецов А.П. и др., 2015).

В этот период отмечаются и первые возрастные изменения (Кузнецов А.П. и др., 2015): половое созревание сопровождается появлением эстральных циклов у самок. Для создания условий их синхронизации (Клочков Д.В., Алехина Т.А., 2014) в нашей работе животные находились в одних и тех же экспериментальных группах с момента их формирования.

Исходя из поставленных в диссертационном исследовании задач, на первом этапе работы нами было изучено влияние материнского стресса – принудительного плавания в воде при температуре 10°C в течение 5 минут с 10-го по 16-й день беременности – на ноцицептивную чувствительность потомства женского и мужского пола в разные периоды постнатального онтогенеза (Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., 2021б; Субботина А.Ю. и др., 2022а; Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., Перцов С.С., 2022в; Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., Перцов С.С., 2022г). Перцептуальный компонент болевой чувствительности оценивали по ЛПРОХ в ответ на свето-термальное раздражение. Эмоциональный компонент ноцицепции анализировали по ПВ при электрокожном раздражении хвоста.

Обнаружено, что внутриутробный стресс на выбранной модели сопровождается значимым ослаблением перцептуального компонента ноцицептивной чувствительности у самцов и самок крыс ювенильного возраста (60-е сутки), но не на более ранних стадиях постнатального развития.

Известно, что показатели ноцицепции формируются в постнатальном онтогенезе постепенно. По мере взросления у крыс расширяется диапазон реагирования на болевые воздействия и формирование соответствующего ответа (Алексеев В.В., 2021). Показано, что новорождённые 3 – 4-дневные лабораторные крысы отвечают на острую соматическую боль, вызванную электрокожным раздражением хвоста, общей двигательной реакцией, которая не сопровождается вокализацией. Формирование этого вида боли опосредовано ростом кислородзависимой микробицидности нейтрофилов, увеличением содержания α -дефензинов и С-реактивного белка в крови. В отличие от молодых особей, у взрослых животных в формирование острой соматической боли вовлекаются все факторы врождённого иммунитета, вследствие этого перцептуальный компонент ноцицепции остаётся неизменным (Bâ A., Seri B.V., 1993). Тоническая боль высокой интенсивности в ответ на ноцицептивные воздействия может появляться в пубертатном периоде, когда наблюдаются возрастные перестройки в гормональных и нейромедиаторных системах. В свою очередь, стресс любой этиологии вызывает долговременные последствия, зависящие от интенсивности стрессорной нагрузки, вида и пола животного, генетического фона как матери, так и плода (Вьюшина А.В., Ордян Н.Э., 2021). Например, иммобилизационный стресс самок во время беременности изменяет характер формирования и функциональной активности ноцицептивной системы у потомства. Пренатальный стресс вызывает морфофункциональные изменения в структурах головного мозга (дорсальных ядрах шва, неокортексе и гиппокампе), вовлечённых в реализацию ноцицептивных реакций, потенцирует центральную и периферическую сенситизацию (Буткевич И.П., 2007).

Основываясь на этом, можно предположить, что выбранная нами модель стресса имеет долговременные последствия, которые проявляются в изменении

восприятия боли у половозрелых животных. При этом активация иммунной системы в более ранние периоды развития и во время полового созревания сглаживает эффекты стресса, но не устраняет их полностью, так как его последствия наблюдаются у более взрослых животных.

Обнаруженное нами ослабление перцептуального компонента болевой чувствительности у животных ювенильного возраста может быть связано с активацией симпатoadреналовой системы, которая, в свою очередь, вызывает состояние стресс-аналгезии. Степень уменьшения болевой чувствительности, вызванной стрессогенным фактором, индивидуальна и может сильно варьировать в зависимости от возраста и пола животного (Butler R.K., Finn D.P., 2009).

Известно, что переживание боли отличается у мужчин и женщин (Ахмадеева Л.Р. и др., 2013; Keogh E., Denford S., 2009). Стресс-индуцированная аналгезия, по данным литературы, более выражена у самцов по сравнению с таковой у самок, что может быть обусловлено спецификой эффектов половых гормонов. Так, абсолютные значения и колебания уровня гормонов яичников, содержания тестостерона в крови у женщин влияют на выраженность болевых синдромов (Данилов А.Б., Ильясов Р.Р., 2015). Реакции ноцицептивной системы могут изменяться с наступлением полового созревания, проявляющегося у самок наличием эстрального цикла, в течение которого наблюдаются колебания содержания женских стероидных половых гормонов (Косырева А.М., 2016).

Кроме того, установлены и возрастные особенности ноцицептивной чувствительности млекопитающих. Например, аналгезия, индуцированная плаванием в холодной воде, у молодых крыс развивается медленнее, чем у взрослых 15 – 16-месячных животных (Butler R.K., Finn D.P., 2009).

Следовательно, материнский стресс во время беременности может являться одним из факторов, способных нарушить механизмы поддержания гомеостаза (Николаева И.В., Белолубская Д.С., 2012). Выявленные нами изменения могут быть связаны с колебаниями концентрации гормонов в системе «мать – плацента – плод», которые приводят к стойким изменениям гормонального фона потомства и сохраняются в пубертатном периоде.

Отметим, что возбуждение хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечников приводит к усиленному выделению нейроэндокринных гормонов (катехоламинов) – адреналина, дофамина и норадреналина (Boyanova L., 2017). У млекопитающих в пренатальный период, до закрытия гематоэнцефалического барьера норадреналин секретируется не только хромаффинными клетками надпочечников и экстраадреналовыми клетками параганглиев, но и клетками головного мозга (Ugrumov M.V., 2009). Как показано ранее, нарушения формирования норадреналиновой регуляции могут приводить к изменениям физиологического развития организма (Муртазина А.Р. и др., 2019).

В дополнение стоит отметить, что погружение крыс в холодную воду активирует эндогенную неопиоидную гормонально-опосредованную анальгетическую систему во всех возрастных группах (Hamm R.J., Knisely J.S., 1987; Hamm R.J. *et al.*, 1990), что также может объяснить выявленные нами изменения ноцицептивной чувствительности у 60-суточных животных.

Наши эксперименты продемонстрировали усиление эмоционального компонента ноцицепции после пренатального стрессорного воздействия избирательно у самцов инфантильного возраста (30-е сутки) по сравнению с животными контрольной группы. Ослабление этого показателя наблюдалось у внутриутробно стрессированных самцов и самок крыс к 60-м суткам жизни по сравнению с предыдущими возрастными периодами.

Полученные данные согласуются и дополняют результаты предыдущих исследований, посвящённых изучению особенностей ноцицепции у млекопитающих. Так, повышение уровня материнских глюкокортикоидов, например, кортизола в ответ на стрессорное воздействие во время беременности проявляется нарушениями функционирования ЦНС в ранние периоды постнатального онтогенеза (Вьюшина А.В., Ордян Н.Э., 2021). Это может сопровождаться гормональными перестройками у животных в течение полового созревания.

Выявленное нами подавление эмоционального компонента ноцицепции у самцов и самок крыс в отдалённый период после пренатального стрессорного

воздействия согласуется с результатами изучения эффектов стресса, вызванного 24-ч иммобилизацией взрослых животных (Абрамова А.Ю., 2020). Можно предположить, что указанные модели стресса оказывают сходное влияние на организм, проявляющееся в развитии аналогичных по характеру изменений болевой чувствительности.

Материнский уход, социальное взаимодействие самки и потомства крыс играют важную роль как в формировании, так и в возможных нарушениях ноцицептивной чувствительности. В работе R. Rokyta с соавт. (2008) отмечено, что ноцицепция у крыс во многом зависит от социальных факторов, в частности, от характера материнского ухода за потомством. Так, у пренатально стрессированных самцов, выращенных приёмными самками, наблюдается повышенная болевая чувствительность по сравнению с таковой у крысят, выросших с материнскими особями. У животных, разлученных с матерями, во взрослом возрасте наблюдались нарушения нейроэндокринных функций.

Известно, что в регуляции материнского поведения большую роль играют опиоиды. Они оказывают регуляторное влияние на широкий спектр процессов, связанных не только с болевой чувствительностью, но также с родами, лактацией и материнским поведением (Добрякова Ю.В., 2009). Активация в организме матери стрессорного ответа и обусловленные ею реакции эндокринной и иммунной систем играют определённую роль в этиологии эффектов пренатального стресса. Стресс разного генеза может изменять материнское поведение, влиять на время кормления и нахождения самки в гнезде, что, в свою очередь, отражается на физиологическом развитии потомства.

Таким образом, выявленные нами изменения перцептуального и эмоционального компонентов ноцицепции могут быть также связаны с особенностями материнского ухода. В нашем исследовании крысята находились в родном гнезде с момента рождения до 21-го дня жизни, то есть, не были отданы на вскармливание приёмной самке. Нельзя исключить, что стресс плавания в холодной воде во время беременности имел последствия в виде изменения поведения и уровня тревожности материнской особи.

Далее нами было изучено влияние пренатального стресса на состояние иммунокомпетентных органов крыс (Субботина А.Ю. и др., 2022в).

Общеизвестно, что в постнатальный период у крыс иммунная система продолжает развиваться и претерпевает существенные функциональные и морфологические изменения. Однако морфологические признаки зрелости компонентов иммунной системы не подтверждают её функциональную иммунокомпетентность (Субботина А.Ю. и др., 2022б).

В нашей работе показано, что внутриутробный стресс на модели плавания материнских особей в холодной воде сопровождается инволюцией тимуса у самцов крыс в ранний период развития – на 21-е сутки (подсосный возраст). Вместе с тем, в динамике постнатального развития к 60-м суткам жизни наблюдается постепенное снижение относительной массы тимуса у стрессированных самцов и самок. Таким образом, на 60-е сутки жизни масса данного органа у самок больше, чем у самцов.

Известно, что тимус крыс претерпевает возрастную инволюцию с 1,5-месячного возраста (Лузин В.И. и др., 2013; Усмонов У.Р. и др., 2021) и до достижения половой зрелости (Кузнецов А.П. и др., 2015; Цомартова Э.С., 2020). Продemonстрированное нами снижение массы тимуса у 21-дневных животных не является результатом указанного выше процесса, а служит, по-видимому, проявлением неспецифической ответной реакцией организма на стрессорное воздействие (Гуцол Л.О. и др., 2022; Selye H., 1936). В основе неё лежит активация симпатoadреналовой системы, сопровождающаяся поступлением в кровь адренкортикотропного гормона (АКТГ), который, в свою очередь, стимулирует продукцию и выделение в кровотоки адреналина (Салехов С.А., 2019). Вследствие этого нарушается микроциркуляция в органах и тканях, что в результате может приводить к гипоксии. Как известно, иммунокомпетентные органы крайне чувствительны к гипоксии, именно поэтому происходят дегенеративные изменения тимуса.

Исследования, посвящённые изучению влияния острой гипоксии на стадии раннего органогенеза, подтверждают, что указанное воздействие впоследствии

приводит к нарушению постнатального развития потомства (Граф А.В., 2005). Это проявляется в нарушениях вегетативного баланса, расстройствах поведения, изменениях соотношения биогенных аминов в структурах мозга, отклонениях нейрональной организации гиппокампа. Показано, что нарушения развития потомства низко устойчивых к гипоксии самок сохраняются до половозрелого периода, то есть, скорее всего, носят необратимый характер. При этом также установлены половые различия наблюдающихся последствий.

В других исследованиях показано, что гипоксия плода – это патология беременности, которая сопровождается разными нарушениями, в том числе и иммунными расстройствами: морфологическими изменениями в тимусе и селезёнке у самок и плодов крыс, усилением васкуляризации и гликолитических процессов в плаценте, истончением плацентарного барьера (Балашова М.О., 2001). В результате это приводит к нарушению обменных процессов в системе «мать – плацента – плод» и впоследствии может сопровождаться акцидентальной инволюцией тимуса – проявлением адаптационного синдрома на стрессорные воздействия (Киселева Н.М., Иноземцев А.Н., 2010). Поскольку тимус начинает функционировать ещё в пренатальный период развития ребёнка (Кузьменко Л.Г., Киселёва Н.М., 2011) и оказывает модулирующее влияние на нейроэндокринные центры гипоталамуса, то стрессорные воздействия в указанное время не могут не отразиться на его формировании и реализации функций.

В другой работе отмечены волнообразные изменения функционального состояния тимуса при холодовом стрессе (Гармаева Д.К. и др., 2019). Ежедневные помещения животного в холодильную камеру при $-10 \pm 20^{\circ}\text{C}$ в течение 1 часа на протяжении 7, 14, 21 и 30 суток сопровождаются незначительным угнетением функциональной активности тимуса на 7-е сутки, развитием компенсаторно-приспособительных реакций на 14-е сутки, структурно-функциональными изменениями в виде развивающейся акцидентальной инволюции на 30-е сутки наблюдений.

Признаки акцидентальной инволюции тимуса у экспериментальных животных наблюдались также на 10-е сутки после острого полуторачасового холодового стресса при 4°C (Маткина О.В., 2014; Сивакова Л.В. и др., 2014).

В нашем исследовании обнаружено, что внутриутробный стресс приводит к снижению относительной массы тимуса избирательно у самцов подсосного возраста (21-е сутки жизни). По-видимому, половые различия реакций иммунной системы выражены неодинаково у животных разного возраста и, возможно, определяются возраст-зависимыми колебаниями уровня половых гормонов (Косырева А.М., Макарова О.В., 2020). В отличие от самцов, уменьшение массы тимуса не выявлено у стрессированных самок как в ранние, так и в более поздние периоды развития. Это может свидетельствовать об обратимости данного процесса, а также о наличии критических периодов постнатального онтогенеза, когда нивелируются эффекты пренатального стресса на иммунную систему развивающегося организма (Аршавский И.А., 1982). Следует отметить, в используемых нами экспериментальных условиях относительная масса тимуса как у самцов, так и у самок крыс снижается к половозрелому возрасту (60-е сутки жизни).

Нами показано, что у потомства обоих полов в инфантильном возрасте – 30-е сутки жизни – наблюдается увеличение относительной массы селезёнки. В отличие от самцов, самки крыс, подвергнутые пренатальной стрессорной нагрузке, характеризуются снижением данного показателя на 60-е сутки постнатального развития – ювенильный возраст. Установлено, что относительная масса селезёнки у самок в этом возрасте ниже, чем в более ранние периоды жизни.

В исследовании на самках крыс Sprague-Dawley показано, что стрессорная нагрузка в течение последней недели беременности (начиная с 14-го дня) изменяет иммунные реакции взрослого потомства в условиях острого и хронического иммобилизационного стресса (Llorente E. *et al.*, 2002). Материнский стресс в третьем триместре беременности вызывает гипертрофию надпочечников

у потомства женского пола, но не у самцов, а также снижение общего количества лейкоцитов в периферической крови.

Как известно, повышение уровня кортикостерона в условиях стресса сопровождается апоптозом иммунных клеток – лимфоцитов, тимоцитов и спленоцитов – что является причиной инволюции лимфоидных органов (Sarjan H.N., Yajurvedi H.N., 2019). Значительное усиление апоптоза спленоцитов у стрессированных крыс приводит к уменьшению массы селезёнки. При этом отмечено, что тимус более чувствителен к стрессорному воздействию, чем другие лимфоидные органы.

Полученные нами результаты дополняют имеющиеся данные в этой области. Как было указано выше, на 30-е сутки жизни стрессированные самцы характеризовались сниженной относительной массой тимуса. Следует отметить, что в настоящее время неизвестно, являются ли последствия стресса обратимыми для лимфоидных органов. Однако предполагается, что если концентрация кортикостерона в крови уменьшается до нормальных значений в течение определённого периода восстановления, то вызванные стрессом повреждения могут быть обратимы (Sarjan H.N., Yajurvedi H.N., 2019). Возможно, обнаруженное нами увеличение относительной массы селезёнки у крыс в инфантильном возрасте (30-е сутки жизни) иллюстрирует восстановление состояния этого органа после пренатального стрессорного воздействия, а также изменение характера распределения иммунных клеток между различными лимфоидными органами. Однако данное предположение требует проведения дальнейших экспериментальных исследований.

Нельзя исключить, что увеличение массы селезёнки может быть обусловлено возрастными изменениями у животных. В пренатальный период селезёнка временно функционирует как кроветворный орган, а в постнатальный – как лимфоидный (Nayak B.N., Buttar H., 2015). В дополнении к функции фильтрации крови, она играет важную роль в поддержании гомеостаза и процессов регенерации тканей организма. С возрастом происходит усиление селезёночного экстрамедуллярного гемопоэза (Loukov D. *et al.*, 2016). Так,

например, у 18 – 22-месячных мышей селезёнка больше, чем у молодых особей, и причина этого – усиленный моноцитопоез. Экстрамедулярный гемопоэз часто обусловлен воспалением, а усиление моноцитопоеза может приводить к снижению уровня гемоглобина в селезёнке. Как известно, спленомегалия в условиях стресса может быть вызвана рядом причин (воспалительными процессами и нарушениями обмена веществ в организме; Nayak B.N., Buttar H., 2015), которые, по-видимому, являются результатом роста содержания кортикостерона, норадреналина и воспалительных цитокинов в селезёнке (Feriani D.J. *et al.*, 2021).

Известно, что существует возрастная зависимость регенераторного потенциала лимфоидной ткани селезёнки при развитии постстрессорной иммуносупрессии в раннем постнатальном онтогенезе (Шефер Е.Г. и др., 2010). Так, у крыс подсосного возраста повторные стрессорные воздействия на модели ежедневной 5-часовой иммобилизации в течение 7 дней сопровождаются изменениями иммуносупрессивного характера большей степени и длительности, чем у животных инфантильного возраста.

Показано, посттравматическое стрессорное расстройство, возникающее при действии сильных стрессоров на организм, характеризуется отсроченными физиологическими изменениями (Кондашевская М.В., 2018). В опытах на половозрелых самцах Вистар, подвергнутых ежедневному 10-минутному предаторному стрессу в течение 10 суток, показано усиление рециркуляции иммунокомпетентных клеток и снижение продукции противовоспалительного ИЛ-10 в селезёнке. Существенно, что при этом масса селезёнки остаётся неизменной. Данный факт является косвенным обоснованием обнаруженного нами отсутствия значимых изменений массы селезёнки у животных подсосного возраста после пренатального стресса. Однако выявленная в нашем исследовании гипертрофия селезёнки у крыс инфантильного возраста свидетельствовать о морфологических и физиологических нарушениях в этом органе.

В работе С.О. Фетисова с соавт. (2021) показано, что функциональная активность селезёнки белых крыс снижается к 3-м суткам после 24-часового

иммобилизации. Существенно, что на 8-е сутки постстрессорного периода обнаружено неполное восстановление морфологических структур селезёнки.

При обсуждении полученных нами результатов следует учитывать также данные о возрастных и половых особенностях формирования и развития органов иммунной системы. Например, установлено, что влияние материнского стресса в период беременности на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему в значительно большей степени выражено у потомства женского пола (Вернигора А.Н., Волкова Н.В., 2013).

Впоследствии нами были проанализированы изменения показателей цитокинового профиля периферической крови крыс в разные периоды постнатального онтогенеза после внутриутробной стрессорной нагрузки (Субботина А.Ю. и др., 2022б; Субботина А.Ю. и др., 2022в; Субботина А.Ю., Мартюшева А.С., 2022е).

Выявлено, что пренатальный стресс на модели принудительного плавания материнских особей в холодной воде сопровождается увеличением концентрации провоспалительного цитокина ФНО- α в периферической крови самцов и самок животных в ювенильном возрасте (60-е сутки жизни) по сравнению с показателями у интактных крыс.

Полученные данные дополняют имеющиеся сведения в этой области. Имеются доказательства, иллюстрирующие негативное влияние стресса на параметры иммунного ответа и баланс иммуноактивных веществ в тканях. Так, иммобилизационный стресс и принудительное плавание крыс вызывают увеличение уровня ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО- α в крови (Himmerich H. *et al.*, 2013). Стрессорная нагрузка во время беременности индуцирует выраженное подавление плацентарных транскриптов, связанных с такими иммунными процессами, как регуляция Т-клеток, передача сигналов цитокинами, врождённый иммунный ответ в материнском организме (Martinez C.A. *et al.*, 2022). В экспериментальных исследованиях обнаружено, что пренатальный стресс на модели социальной конфронтации беременных самок приводит к снижению

базального уровня кортикостерона, подавлению пролиферации лейкоцитов (Götz A.A., Stefanski V., 2007), нейтрофилов, моноцитов, Т- и NK-клеток, уменьшению количества лимфоцитов у потомства (Gotz A. *et al.*, 2007). При этом материнский стресс оказывает модулирующее влияние на эндокринные реакции потомства во взрослом возрасте в условиях острого и хронического иммобилизационного стресса (Llorente E. *et al.*, 2002).

Известно, что серотонин участвует во многих биологических процессах как в головном мозге, так и в иммунных органах. По данным Н.В. Лифанцева с соавт. (2020) в основе онтогенетической пластичности иммунной системы, в частности, тимуса может лежать способность серотонина влиять на экспрессию цитокинов. Активация или блокада рецептора *Htr1 α* меняет соотношение различных цитокинов в формирующемся тимусе, что может негативно отразиться на развитии органов животных. Так, активация *Htr1 α* рецептора, опосредующая действие синтезирующегося в тимусе серотонина, подавляет синтез мРНК ФНО- α и усиливает секрецию цитокина ИЛ-10. По одним источникам (Лифанцева Н.В., Конеева Ц.О., 2017), в организме плодов серотонин синтезируется клетками тимуса и циркулирует в значительной концентрации в крови. По другим данным (Сайфетярова Ю.Ю. и др., 2014), в отсутствие гематоэнцефалического барьера, закрытие которого у крыс происходит только к 30-м суткам жизни (Ugrumov M.V., 2010), главную роль в становлении физиологически активной концентрации серотонина в крови играет мозг (Насырова Д.И. и др., 2009). Стресс у матери стимулирует синтез серотонина плацентой и повышает его уровень в крови плода (Williams M. *et al.*, 2017). Полученные нами данные, по-видимому, иллюстрируют смещение баланса цитокинов в крови плода, которое может приводить к последующему росту концентрации ФНО- α в крови у 60-суточных крыс.

Следует отметить, что при исследовании цитокинового профиля у крыс Вистар выявлено, что у самцов и самок с возрастом наблюдается повышение уровня продукции провоспалительного ФНО- α клетками селезёнки (Симонова Е.Ю. и др., 2014). Представленные сведения также являются косвенным объяснением полученных нами результатов.

В наших исследованиях установлено, что внутриутробная стрессорная нагрузка у самцов нивелирует наблюдающееся в норме возрастное снижение содержания ФНО- α , а у самок – наоборот, приводит к постепенному повышению его уровня от подсосного (21-е сутки) к инфантильному возрасту (30-е сутки) с достижением наивысшего значения у ювенильных особей.

Представленные результаты дополняют имеющиеся научные данные по изучаемой проблеме. Например, в работе О.А. Овсянниковой (2016) изучено действие газообразных серосодержащих поллютантов на крыс разного возраста. Эта модель стресса у крыс молодого (6 – 36-е сутки жизни) и предстарческого возраста (700 – 730-е сутки жизни) характеризовалась нарушением функций противовоспалительной системы, а также смещением баланса между про- и противовоспалительными цитокинами в сторону первых. Изменение цитокинового профиля в сторону повышения уровня провоспалительных цитокинов, отмечается также у крыс на ранних этапах формирования хронического болевого процесса (Котиева И.М. и др., 2022). На отдалённых стадиях, наоборот, цитокиновый профиль изменяется в сторону усиления активности противовоспалительных цитокинов.

В нашем исследовании установлено, что пренатальная стрессорная нагрузка у крыс влияет на время проявления и характер половых различий концентрации ФНО- α в крови: если в норме данный показатель больше у самцов инфантильного возраста, то после стресса – у самок ювенильного возраста.

В научной литературе имеются отдельные сведения о возрастных изменениях цитокинового профиля биологических тканей у млекопитающих (Симонова Е.Ю. и др., 2014). Показано, что у мужчин и женщин репродуктивного возраста по сравнению с детьми выше уровень продукции ФНО- α лимфоцитами периферической крови (Гуськова Т.А., 2003; Симонова Е.Ю. и др., 2014; Hrapkiewicz K. *et al.*, 2013). Возрастные изменения цитокинового профиля селезёнки у самцов и самок крыс Вистар проявляются в увеличении продукции лимфоцитами Th-1-цитокинов ИЛ-2 и ИНФ- γ , а также Th-2-цитокинов ИЛ-4 и ФНО- α (Симонова Е.Ю. и др., 2014; Huber G.C., 1915). Сходные колебания

содержания ФНО- α выявлены ранее на модели физического стресса у крыс – хронического сдавливания седалищного нерва (Farghaly H.S.M. *et al.*, 2016). В указанных условиях наблюдалось значительное повышение уровня этого цитокина по сравнению с контрольными значениями.

С другой стороны, в опытах на моделях острой стрессорной нагрузки, вызванной иммобилизацией крыс в пластиковых пеналах (Перцов С.С. и др., 2015), ограничением подвижности животных с одновременным нанесением подпорогового электрокожного раздражения (Kalinichenko L.S. *et al.*, 2014) выявлено уменьшение содержания провоспалительных цитокинов в крови. Наблюдающиеся на первый взгляд противоречия могут быть обусловлены использованием различных видов стрессорных воздействий, половыми и возрастными особенностями животных, а также другими факторами.

Нами обнаружено, что внутриутробное стрессорное воздействие не влияет на концентрацию противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в сыворотке периферической крови самцов и самок крыс по сравнению с таковой у интактных особей, но сглаживает выявленное в условиях нормы возрастное снижение его уровня с наименьшим значением в ювенильном возрасте (60-е сутки жизни).

Наблюдающиеся в нормальных условиях возраст-зависимые изменения концентрации этого противовоспалительного цитокина могут быть обусловлены тем, что у крыс, начиная с 19 – 21-го дня жизни, уже возможна реализация Т-клеточного иммунного ответа (Карпова Я.Д. и др., 2013). Колебания содержания ИЛ-10 в периферической крови, возможно, связаны с неодинаковой степенью вовлечения указанного цитокина в формирование иммунных реакций у животных на разных этапах онтогенеза.

Полученные нами данные дополняют сведения о характере влияния стресса на некоторые показатели цитокинового профиля у млекопитающих. В частности, в экспериментах на модели хронического плавания крыс в холодной воде показано значительное увеличение относительной степени экспрессии генов ИЛ-4 и ИЛ-6 в тканях тимуса, но уменьшение в гипоталамусе (Янкелевич И.А. и др., 2019). При этом активность гена провоспалительного цитокина ИЛ-6 была в

несколько раз выше таковой противовоспалительного ИЛ-4. По мнению авторов, указанные изменения обусловлены колебаниями функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса и иммунной системы. Представленные факты, а также результаты нашей работы свидетельствуют об изменении соотношения и нарушении сигнальных взаимодействий между про- и противовоспалительными цитокинами (Абрамова А.Ю. и др., 2013).

В заключении работы нами был проведён анализ взаимосвязей между ноцицептивными и иммунными показателями у крыс разного пола и возраста после внутриутробной стрессорной нагрузки (Субботина А.Ю., 2022д; Subbotina A.Y. *et al.*, 2023). Корреляционные матрицы у животных разных экспериментальных групп построены с использованием следующих числовых данных: параметров ноцицептивной чувствительности – ЛПРОХ и ПВ; относительной массы иммунокомпетентных органов – тимуса и селезёнки; концентрации цитокинов – ФНО- α и ИЛ-10 – в сыворотке периферической крови.

Показано, что потомство контрольных крыс характеризуется наличием корреляционных связей между иммунными показателями (значения уровня цитокинов в крови и массы иммунокомпетентных органов) в ранний период онтогенеза на 21-е сутки жизни. У самцов обнаружены положительные, а у самок – отрицательные корреляции. В отличие от самок, у самцов выявлена прямая взаимосвязь между ноцицептивными и иммунными параметрами, которая с возрастом (на 60-е сутки жизни) изменяется на обратную.

Полученные результаты подтверждают данные о том, что в раннем постнатальном онтогенезе у грызунов происходит созревание иммунной системы, которая не полностью сформирована к рождению (Hrapkiewicz K. *et al.*, 2013; Пасюк А.А., 2018). Например, в период с 1-й по 3-ю неделю жизни происходит активный рост и развитие вилочковой железы (Пасюк А.А., Пивченко П.Г., 2006; Пасюк А.А., 2017); в это время она наиболее чувствительна к воздействию неблагоприятных факторов. Интенсивный рост и морфофункциональное развитие типичны также для селезёнки подсосных животных (Кашенко С.А. и др., 2013). В

этот период также увеличиваются линейные размеры иммунокомпетентных органов (Лузин В.И. и др., 2013). Это согласуется со сведениями о том, что хотя в ранние периоды развития иммунная система может отвечать на воздействие антигена, полной зрелости она достигает лишь в период полового созревания (Кузнецов А.П. и др., 2015). После полового созревания отмечаются первые возрастные изменения, которые отражаются и на функциях иммунокомпетентных органов.

Половое созревание у крыс характеризуется высокой функциональной активностью иммунной системы (Симонова Е.Ю., 2013). Как известно, ноцицептивный ответ служит проявлением реакций нервной системы на повреждение тканей (Касенов Б.Ж., Измайлова С.Х., 2020; Перцов С.С. и др., 2021), при котором происходит высвобождение веществ, вызывающих возбуждение соответствующих рецепторов (Мороз Б.Б., 2001; Перцов С.С. и др., 2021). Такими веществами, в том числе, являются цитокины (например, ФНО). Поскольку боль является многокомпонентной реакцией, в реализации которой участвуют нервная и иммунная система, можно предположить, что при этом изменяется также состояние органов-маркёров стресса или иммунокомпетентных органов.

Таким образом, воздействие стрессоров разной этиологии приводит к нарушению гомеостаза в организме, что отражается на взаимодействии различных функциональных систем у млекопитающих.

В наших исследованиях продемонстрировано, что стресс плавания материнских особей в холодной воде во время беременности сопровождается изменением характера взаимосвязей между изученными физиологическими показателями у потомства крыс в разные периоды онтогенеза. В отличие от интактных, у внутриутробно стрессированных самок подсосного возраста наблюдается положительная корреляция между массой тимуса и селезёнки. Выявленные в норме у самцов на 21-е сутки жизни связи между иммунными показателями, а также корреляции ноцицептивных и иммунологических параметров на более поздних стадиях развития не обнаружены после

пренатальной стрессорной нагрузки. Внутриутробный стресс у самцов приводит к появлению отсутствующих в контроле корреляций между иммунными показателями у инфантильных (отрицательной: масса тимуса $\leftrightarrow$ уровень ФНО- α) и ювенильных животных (положительной: масса селезёнки $\leftrightarrow$ уровень ФНО- α).

Наши результаты дополняют опубликованные ранее научные данные. Пренатальный стресс влияет на иммунную систему потомства (Llorente E. *et al.*, 2002), в частности, приводит к уменьшению массы лимфоидных органов и нарушению их функциональной активности. При этом с возрастом может происходить нормализация функций иммунокомпетентных структур, но длительность процесса восстановления, необходимого для реализации адекватных иммунных реакций, не известна (Фетисов С.О. и др., 2021).

Следует подчеркнуть, что наличие взаимосвязей между иммунной и ноцицептивной системами было показано в ряде предыдущих исследований. Например, установлено, что антигенное воздействие посредством системного введения липополисахарида приводит к увеличению ноцицептивной чувствительности крыс (Абрамова А.Ю., Перцов С.С., 2014).

В другой экспериментальной работе изучены корреляции показателей ноцицепции и иммунных параметров у крыс Вистар с разной поведенческой активностью в условиях хронического стресса (Чехлов В.В. и др., 2019). При повторных стрессорных нагрузках в течение 8 суток у самцов обнаружены прямые корреляции анализируемых параметров. У поведенчески пассивных крыс межгрупповые связи выявлены во все изученные временные периоды, у активных – только на 3-е и 8-е сутки стресса. Это демонстрирует специфику формирования межсистемных взаимосвязей у животных с разными типами поведения.

Выявленное нами появление новых взаимосвязей, а также изменение знака корреляций между иммунными параметрами у внутриутробно стрессированных крыс отражают сложные функциональные изменения после отрицательных воздействий в пренатальный период развития.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что внутриутробный стресс в период органогенеза у крыс сопровождается

изменениями эмоционального и перцептуального компонентов ноцицепции, оказывает специфическое влияние на состояние иммунокомпетентных органов – тимуса и селезёнки, приводит к колебаниям ряда показателей цитокинового профиля крови в постнатальном онтогенезе. Обнаружены особенности изменений взаимосвязей между изученными физиологическими параметрами у животных разного пола и возраста. Представленные факты расширяют имеющиеся сведения о характере влияния пренатального стресса на физиологические показатели у самцов и самок млекопитающих в разные периоды постнатального развития.

Понимание тонких механизмов, опосредующих развитие негативных последствий внутриутробного стресса у млекопитающих на разных стадиях постнатального онтогенеза, требует проведения дальнейших исследований.

6. ВЫВОДЫ

1. Пренатальная стрессорная нагрузка приводит к ослаблению перцептуального компонента ноцицептивной чувствительности у крыс на 60-е сутки жизни. В отличие от самок, внутриутробно стрессированные самцы характеризуются усилением эмоционального компонента ноцицепции на 30-е сутки постнатального онтогенеза по сравнению с контрольными особями.

2. Внутриутробный стресс сопровождается инволюцией тимуса у самцов крыс на 21-е сутки жизни. В указанных условиях у потомства обоих полов на 30-е сутки развития выявлена гипертрофия селезёнки; в отличие от самцов, самки характеризуются уменьшением относительной массы этого органа на 60-е сутки постнатального онтогенеза по сравнению с контролем.

3. Пренатальная стрессорная нагрузка не влияет на концентрацию противовоспалительного цитокина ИЛ-10, но приводит к повышению уровня провоспалительного ФНО- α в крови животных на 60-е сутки жизни по сравнению с интактными особями. Данное воздействие у самцов нивелирует наблюдающееся в норме возрастное снижение содержания ФНО- α , а у самок – наоборот, приводит к постепенному повышению его уровня с достижением наивысшего значения к 60-м суткам постнатального онтогенеза. В отличие от контрольных групп, после внутриутробного стресса на 60-е сутки развития концентрация ФНО- α в сыворотке крови у самок крыс больше, чем у самцов.

4. Внутриутробно стрессированные самки, в отличие от интактных особей, характеризуются положительной корреляцией между относительной массой тимуса и селезёнки на 21-е сутки жизни. Выявленные в этот период у самцов контрольных групп связи между иммунными показателями, а также их корреляции с ноцицептивными параметрами на более поздних стадиях развития не обнаружены после пренатального воздействия. Внутриутробный стресс у самцов приводит к появлению отсутствующих в норме корреляций уровня ФНО- α

в крови: отрицательной – с относительной массой тимуса на 30-е сутки, положительной – с массой селезёнки на 60-е сутки жизни.

5. Внутривутробный стресс на модели принудительного плавания в холодной воде оказывает специфическое влияние на ноцицептивную чувствительность, состояние иммунокомпетентных органов и цитокиновый профиль крови, характер которого зависит от пола и возраста животных. В отличие от самок, самцы крыс в указанных условиях характеризуются более ранними изменениями иммунных и ноцицептивных параметров. В относительно поздний период постнатального онтогенеза у самок животных наблюдаются более выраженные изменения иммунных показателей, а у самцов – реорганизация наблюдающихся в норме корреляционных связей между ноцицептивными и иммунологическими параметрами.

7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ – адренотропный гормон

ВИП – вазоактивный
интестинальный полипептид

ЛПРОХ – латентный период
реакции отведения хвоста

ДГЭА – дегидроэпиандростерон-
сульфат

ИЛ-*(цифровой или буквенный
символ) – интерлейкин-(цифровой
или буквенный символ)

мА – миллиампер

мкл – микролитр

мРНК – матричная
рибонуклеиновая кислота

нм – нанометр

об/мин – количество полных
оборотов в минуту

ПВ – порог вокализации

СЗ – СЗ компонент комплимента

сек – секунды

СРБ – С-реактивный белок

ФНО-*(буквенный символ) –
фактор некроза опухоли-
(буквенный символ)

ФНО- α – фактор некроза опухоли
альфа

Htr1a – серотониновый рецептор
1a типа

IASP – Международная ассоциация
по изучению боли

IFN- γ – интерферон гамма

IgA – иммуноглобулин А

IgM – иммуноглобулин М

iNOS – синтаза оксида азота

Me – медиана

n – число животных в группах

НК-клетки – естественные или
натуральные киллеры

Q1 и Q3 – верхний и нижний
квартили

Th-*(цифровой символ) – Т-хелпер
-(цифровой символ) типа

TNF – tumor necrosis factor

TRAIL – ФНО-связанный апоптоз-
индуцирующий лиганд

Treg – Т-регуляторные клетки

WSPA – Всемирное общество
защиты животных

8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова А.Ю. Болевая чувствительность у крыс при экспериментальном стрессе в условиях иммунной модуляции: автореф. дис. ... докт. мед. наук : 03.03.01 / Абрамова Анастасия Юрьевна. – М., 2020.–51 с.
2. Абрамова А.Ю. Корреляционные зависимости между показателями ноцицептивной чувствительности и уровнем цитокинов в биологических средах у крыс при введении липополисахарида / А.Ю. Абрамова, С.С. Перцов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157. – № 5. – С. 548-553.
3. Абрамова А.Ю. Современные представления о боли / А.Ю. Абрамова, С.С. Перцов // Медицинская сестра. – 2017. – № 8. – С. 20-25.
4. Абрамова А.Ю. Содержание цитокинов в крови и структурах головного мозга у крыс при введении липополисахарида / А.Ю. Абрамова, С.С. Перцов, А.Ю. Козлов, Е.В. Никенина, Л.С. Калиниченко, Е.Н. Дудник, И.В. Алексеева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155. – № 4. – С. 405-409.
5. Адайбаев Т.А. Морфология вилочковой железы в раннем онтогенезе у белых крысят / Т.А. Адайбаев, Г.К. Сагимова, А. Сарсен, Е. Маней, А. Даниярбек // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2020. – Т. 20. – № 9. – С. 154-156.
6. Акарачкова Е.С. Материнский стресс и здоровье ребёнка в краткосрочной и долгосрочной перспективе / Е.С. Акарачкова, А.Р. Артеменко, А.А. Беляев, Д.В. Блинов, О.В. Гончаренко, Э.М. Джобава, Л.Р. Кадырова, К.С. Керимова, Л.В. Климов, И. Григорашвили, О.В. Котова, Д.И. Лебедева, И.М. Мельникова, А.С. Орлова, И.А. Радченко, О.В. Рябоконь, Е.В. Травникова, Е.В. Царева, А.Х. Шадыев, О.Н. Яковлев // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2019. – № 3. – С. 26-32.
7. Алексеев В.В. Развитие реакции гуморальных и клеточных факторов врождённого иммунитета на острую соматическую боль в онтогенезе у крыс. дис. ...д-ра мед. наук :1.5.5/Алексеев Владимир Вячеславович.–Краснодар, 2021.–318 с.

8. Алексеева И.В. Ноцицептивная чувствительность в условиях стрессорных воздействий / И.В. Алексеева, А.Ю. Абрамова, С.С. Перцов // Российский журнал боли. – 2022. – Т. 20. – № 3. – С. 42-51. – doi: 10.17116/pain20222003142.
9. Анохин П.К. Очерки по физиологии функциональных систем / П.К. Анохин. – М. : Медицина, 1974. – 446 с.
10. Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития (основы негэнтропийного онтогенеза) / И.А. Аршавский. – М. : Наука, 1982. – 270 с.
11. Ахмадеева Л.Р. Боль как междисциплинарная проблема от периода новорождённости до пожилого возраста / Л.Р. Ахмадеева, Э.Н. Ахмадеева, Б.А. Вейцман, Г.Ш. Раянова, Е.Е. Липатова, Р.Р. Мунасыпова, Д.С. Валеева // Практическая медицина. – 2013. – Т. 1. – № 66. – С. 70-74.
12. Ахмадеева Э.Н., Hansen T.W.R. Боль у новорождённых, оценка и снятие болей / Э.Н. Ахмадеева, T.W.R. Hansen // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – Т. 6. – № 1. – С. 96-105.
13. Балашова М.О. Структурно-функциональные перестройки в плаценте, тимусе и селезёнке при хронической гипоксии и её коррекции низкоинтенсивным инфракрасным излучением : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 / Балашова Марина Олеговна. – Тверь, 2001. – 20 с.
14. Балашова Т.В. Эпидемиология и половые особенности боли / Т.В. Балашова, Л.А. Мнацаканян, Н.А. Андреева, В.А. Павлов, В.Б. Шуматов // ТМЖ. – 2013. – Т. 1. – № 51. – С. 16-20.
15. Беляева Л.Е. Влияние комбинированного пренатального стресса на физическую выносливость, болевую чувствительность и поведение крыс / Л.Е. Беляева, А.Н. Федченко, И.В. Лигецкая, Е.И. Ковзова, В.Н. Столярова // Вестник ВГМУ. – 2015. – № 1. – С. 26-33.
16. Беляков В.И. Лабораторные крысы: содержание, разведение, кормление и использование в биомедицинских исследованиях / В.И. Беляков – Самара : Изд-во «Самарский университет», 2008. – 40 с.

17. Бобрышева И.В. Морфологическая реактивность селезёнки крыс различных возрастных периодов при иммуносупрессии / И.В. Бобрышева // Медицина и образование в Сибири. – 2015. – № 6. – С. 53.
18. Буткевич И.П. Онтогенез поведенческих проявлений острой и тонической боли после пренатальных стрессорных воздействий: дис. ... д-ра биол. наук. : 03.00.13 / Буткевич Ирина Павловна. – СПб, 2007. – 237 с.
19. Вернигора А.Н. Влияние стресса, перенесённого матерями во время беременности, на подвижность потомства в тесте «Открытое поле» и активность карбоксипептидаз в гипоталамо-гипофизарнонадпочечниково-гонадной системе крыс / А.Н. Вернигора, Н.В. Волкова // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2013. – № 1. – С. 144-150.
20. Владимирская Т.Э. Определение фаз эстрального цикла белых крыс по клеточному составу влагалищных мазков / Т.Э. Владимирская, И.А. Швед, С.Г. Криворот, Н.Н. Веялкина, А.В. Адамович // Известия Национально академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2011. – № 4. – С. 88-91.
21. Волков А.О. Динамика про – и противовоспалительных цитокинов у родильниц после кесарева сечения под тотальной внутривенной анестезией / А.О. Волков // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 18.
22. Воробьева О.Б. Возрастные преобразования сократительной активности двенадцатиперстной кишки белой крысы в норме и при химической денервации : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13, 03.00.25 / Воробьева Ольга Борисовна. – Ярославль, 2005. – 26 с.
23. Вьюшина А.В. Некоторые аспекты современного состояния проблемы пренатального стресса и роль окислительного стресса в реализации его последствий / А.В. Вьюшина, Н.Э. Ордян // Успехи современной биологии. – 2021. – Т. 141. – № 2. – С. 133-148.
24. Газизова А.И. Макро-микроскопическая характеристика иммунного органа - селезёнки / А.И. Газизова, Н.Б. Ахметжанова // Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина. – 2018. – Т. 2. – № 47. – С. 222-224.

25. Гармаева Д.К. Влияние холодового стресса на морфофункциональные показатели тимуса в эксперименте / Д.К. Гармаева, Д.С. Белолюбская, А.И. Федорова, Л.И. Аржакова, О.Г. Афанасьева // Морфологические ведомости. – 2019. – Т. 27. – № 2. – С. 19-23. – doi: 10.20340/mv-mn.19(27).02.19-23.
26. Гелашвили О.А. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крысы / О.А. Гелашвили // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2008. – Т. 4. – № 4. – С. 125-126.
27. Граф А.В. Последствия гипоксии периода раннего органогенеза у крыс и их пептидная коррекция : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 / Граф Анастасия Викторовна. – М., 2005. – 24 с.
28. Губарева Л.И. Влияние пренатальной гипогликемии на адаптационные возможности гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы и резистентность к стрессу у крыс / Л.И. Губарева // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2021. – № 1. – С. 55-59.
29. Гудошников В.И. Вклад стресса и его медиаторов в онтопатогенез инфекционных заболеваний: Акцент на взаимодействии цитокинов и глюкокортикоидов / В.И. Гудошников // Успехи геронтологии. – 2016. – Т. 29. – № 4. – С. 536-540.
30. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова. – М. : Издательский дом «Русский врач», 2003. – 154 с.
31. Гуцол Л.О. Стресс (общий адаптационный синдром) / Л.О. Гуцол, Е.В. Гузовская, С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский // Байкальский медицинский журнал. – 2022. – Т. 1. – № 1. – С. 70-80. – doi: 10.57256/2949-0715-2022-1-70-80.
32. Данилов А.Б. Влияние половых гормонов на различия в восприятии боли / А.Б. Данилов, Р.Р. Ильясов // РМЖ. Болевой синдром. – 2015.–№ 29.–С.3-6.
33. Джобава Э.М. Фетальное программирование / Э.М. Джобава // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 3. – С. 10-14. – doi: 10.18565/aig.2018.3.10-15.

34. Добрякова Ю.В. Роль дофаминовой и опиоидной систем в регуляции материнской мотивации и поведения потомства : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 / Добрякова Юлия Владимировна. – М., 2009. – 165 с.
35. Дыбан А.П. Общие закономерности и контролирующие механизмы раннего эмбриогенеза млекопитающих в норме и патологии / А.П. Дыбан. – Л.: Б. и., 1985. – 156 с.
36. Дыбан А.П. Раннее развитие млекопитающих / А.П. Дыбан – Л. : Наука, 1988. – 228 с.
37. Еричев В.П. Роль цитокинов в патогенезе глазных болезней / В.П. Еричев, С.Ю. Петров, А.М. Суббот, А.В. Волжанин, В.Н. Германова, Е.В. Карлова // Национальный журнал Глаукома. – 2017. – Т. 16. – № 1. – С. 87-101.
38. Жылкичиева Ч.С. Изменение цитоморфологических показателей эпителия влагалища у лабораторных крыс с экспериментальным поликистозом яичников при нарушении эстрального цикла / Ч.С. Жылкичиева, Р.Р. Тухватшин, К.И. Асекова // Вестник Кыргызской государственной медицинской академии имени И.К. Ахунбаева. – 2017. – № 3. – С. 133-137.
39. Зайченко И.Н. Пренатальный стресс в формировании гормональных функций и приспособительного поведения у крыс : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 / Зайченко Ирина Николаевна. – СПб, 2000. – 17 с.
40. Западнюк И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. Киев : Головное издательство издательского объединения «Вища школа», 1983. – 383 с.
41. Зарубина Е.Г. Влияние kiss-пептина на эстральный цикл крыс / Е.Г. Зарубина, А.Н. Лысова, В. И. Беляков // Морфологические ведомости. – 2014. – № 2. – С. 34-40.
42. Захарова Л.А. Отдалённые последствия перинатального стресса в функционировании иммунной и нейроэндокринной систем / Л.А. Захарова // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – № 5. – С. 405.

43. Зинина Е.П. Роль провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при бактериальной пневмонии. Обзор литературы / Е.П. Зинина, С.В. Царенко, Д.Ю. Логунов, А.И. Тухватулин, А.В. Бабаянц, А.А. Аврамов // Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова. – 2021. – № 1. – С. 77-89.
44. Кадагидзе З.Г. Цитокины / З.Г. Кадагидзе // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4. – № 3. – С. 131-139.
45. Калиниченко Л.С. Сравнительный анализ действия про и противовоспалительных цитокинов на содержание глюкозы в крови крыс с разной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу / Л.С. Калиниченко, Е.В. Коплик, С.С. Перцов // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2011. – Т. 1. – № 44. – С. 29-32.
46. Калюжный Л.В. Физиологические механизмы регуляции болевой чувствительности / Л.В. Калюжный. – М. : Медицина, 1984. – 216 с.
47. Капитонова М.Ю. Развитие селезёнки в раннем постнатальном онтогенезе / М.Ю. Капитонова, А.И. Краюшкин, А.И. Рябикина, А.А. Нестерова // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2007. – Т. 4. – № 24. – С. 56-59.
48. Карпова Я.Д. Иммунные протеасомы в развитии иммунной системы крысы / Я.Д. Карпова, Ю.В. Люпина, Т.М. Астахова, А.А. Степанова, П.А. Ерохов, Е.Б. Абрамова, Н.П. Шарова // Биоорганическая химия. – 2013. – Т. 39. – № 4. – С. 400-410.
49. Касенов Б.Ж. Физиология боли (Обзор литературы) / Б.Ж. Касенов, С.Х. Измайлова // Вестник КазНМУ. – 2020. – № 4. – С. 262-264.
50. Каштальян О.А. Цитокины как универсальная система регуляции / О.А. Каштальян, Л.Ю. Ушакова // Медицинские новости. – 2017. – № 9. – С. 3-7.
51. Кащенко С.А. Строение селезёнки белых крыс подсосного возраста / С.А. Кащенко, М.В. Золотаревская, Н.В. Станишевская, Л.Г. Войновская // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16. – № 1. – С. 104-106.
52. Кетлинский С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев – СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2008. – 552 с.

53. Кирющенко А.П. Влияние вредных факторов на плод / А.П. Кирющенко. – М. : «Медицина», 1978. – 216 с.
54. Киселева Н.М. Возможная роль тимуса в работе стресс-лимитирующей системы / Н.М. Киселева, А.Н. Иноземцев // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2010. – № 3. – С. 13-20.
55. Клочков Д.В. Селекция на усиление кататонической реактивности крыс, половая функция и синхронизация эстральной цикличности / Д.В. Клочков, Т.А. Алехина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 16. – №. 4/2. – С. 1025-1031.
56. Клочкова С.В. Морфофункциональные показатели селезёнки при иммобилизационном стрессе и применении бактериального липополисахарида / С.В. Клочкова, Н.Т. Алексеева, Д.Б. Никитюк, П.М. Торгун, И.А. Ульянов, О.Л. Свиридова, Д.А. Соколов // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2021. – Т. 10. – № 2. – С. 30-37. – doi: 10.18499/2225-7357-2021-10-2-30-37.
57. Ковалевский К.Л. Разведение и содержание мелких лабораторных животных [Текст]: (Руководство для работников лаборатор. питомников и вивариев) / К.Л. Ковалевский; под ред. и с предисл. проф. А.И. Метелкина. – 2-е изд., заново перераб. и доп. – М. : [б. и.], 1944. – 164 с.
58. Ковальцова М.В. Цитокины, макро- и микроэлементы при стресс-индуцированном нарушении морфофункционального состояния поджелудочной железы у беременных крыс и их потомства / М.В. Ковальцова // Український морфологічний альманах. – 2014. – Т. 12. – № 2. – С. 17-21.
59. Козлов А.Ю. Ноцицептивные реакции у крыс при многократных стрессорных воздействиях / А.Ю. Козлов, А.Ю. Абрамова, В.В. Чехлов, О.С. Григорчук, С.С. Перцов // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2015. – Т. 159. – № 6. – С. 676-680.
60. Комарова О.Н. Взаимосвязь стресса, иммунитета и кишечной микробиоты / О.Н. Комарова, А.И. Хавкин // Педиатрическая фармакология. – 2020. – Т. 17. – № 1. – С. 18-24. – doi: 10.15690/pf.v17i1.2078.

61. Кондашевская М.В. Характеристика структурной организации ткани селезёнки при моделировании посттравматического стрессового расстройства / М.В. Кондашевская // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2018. – № 5. – С. 51-56.
62. Коротаева Н.В. Клинико-патогенетическое обоснование оценки и профилактики болевого синдрома у новорождённых детей разного гестационного возраста / Н.В. Коротаева, М.И. Когутницкая, Е.С. Першина // ПМ. – 2019. – № 5. – С. 141-144.
63. Косырева А.М. Возрастные особенности иммунологических и морфологических проявлений системного воспалительного ответа у самок крыс Вистар / А.М. Косырева // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2016. – № 3 (19). – С. 30-37.
64. Косырева А.М., Макарова О.В. Половые различия морфофункциональных изменений иммунной системы у крыс Вистар разных возрастных групп при экспериментальной эндотоксинемии / А.М. Косырева, О.В. Макарова // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2020. – № 2. – С. 65-73. – doi: 10.21626/vestnik/2020-2/09.
65. Котеров А.Н. Соотношение возрастов основных лабораторных животных (мышей, крыс, хомячков и собак) и человека: актуальность для проблемы возрастной радиочувствительности и анализ опубликованных данных / А.Н. Котеров, Л.Н. Ушенкова, Э.С. Зубенкова, А.А. Вайнсон, А.П. Бирюков // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2018. – Т. 63. – № 1. – С. 5-27.
66. Котиева И.М. Динамические изменения баланса цитокинов в крови у крыс при хроническом болевом стрессе / И.М. Котиева, А.В. Каплиев, М.В. Гулян, С.И. Старостин // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2022. – Т. 12. – № 1. – С. 27-33. – doi: 10.37279/2224-6444-2022-12-1-27-33.
67. Кузнецов А.П. Физиология иммунной системы: монография / А.П. Кузнецов, А.В. Грязных, Н.В. Сажина. – Курган :Курганский гос.ун-т, 2015.–150с.

68. Кузьменко Л.Г. Тимус и стресс в клинике и эксперименте / Л.Г. Кузьменко, Н.М. Киселева // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2011. – № 3. – С. 89-94.
69. Кукушкин М.Л. Общая патология боли / М.Л. Кукушкин, Н.К. Хитров // М. : Издательство "Медицина", 2004. – 144 с.
70. Кулеш В.С. Обзор подходов к математическому описанию динамики клеток тимуса / В.С. Кулеш // Математическая биология и биоинформатика : доклады IX международной конференции, Пущино, 17 – 19 октября 2022 года. Том 9. – Пущино: Институт математических проблем биологии РАН, 2022. – 201-204 с. – doi: 10.17537/icmbb22.53.
71. Лебедев И.Н. Эпигенетические аспекты нарушений эмбрионального развития человека / И.Н. Лебедев // Экологическая генетика. – 2011. – Т. 9. – №3. – С. 15-19.
72. Лифанцева Н.В. Экспрессия компонентов серотонинэргической системы в развивающемся тимусе крыс / Н.В. Лифанцева, Ц.О. Конеева, Е.Е. Воронежская, В.И. Мельникова // Доклады Академии наук. – 2017. – Т. 477. – № 6. – С. 745-748. – doi: 10.7868/S0869565217360257.
73. Лифанцева Н.В. Экспрессия и роль серотонинового рецептора 1a типа в эмбриональном тимусе крыс / Н.В. Лифанцева, Ц.О. Конеева, С.Н. Воронова, Г.В. Луценко, Л.А. Захарова, В.И. Мельникова // Онтогенез. – 2020. – Т. 51. – № 5. – С. 338-350. – doi: 10.31857/S0475145020050055.
74. Лузин В.И. Возрастная динамика изменений органомерических показателей некоторых органов эндокринной, иммунной и костной систем у половозрелых крыс / В.И. Лузин, В.Н. Морозов, Г.В. Лукьянцева, И.А. Белик // Современная медицина: актуальные вопросы. – 2013. – № 23. – С. 159-164.
75. Маткина О.В. Патогистологические изменения в тимусе и селезёнке неинбредных белых крыс при остром стрессе / О.В. Маткина // Пермский медицинский журнал. – 2014. – Т. 31. – № 1. – С. 121-128.
76. Мороз Б.Б. Актуальные проблемы патофизиологии: Избранные лекции / под ред. Б.Б. Мороза. – М. : Медицина, 2001. – 424 с.

77. Морозов А.М. Современное понятие о боли и обезболивании / А.М. Морозов, С.В. Жуков, Н.А. Шатохина, Э.В. Буланова // Тверской медицинский журнал. – 2020. – № 1. – С. 60-70.
78. Мураева Н.А. Возрастные аспекты приспособления иммунной системы к действию хронического стресса : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.00.25 / Мураева Наталия Алексеевна. – Волгоград, 2006. – 26 с.
79. Муртазина А.Р. Роль мозга в регуляции периферических норадреналин-продуцирующих органов в период морфогенеза у крыс / А.Р. Муртазина, Ю.О. Никишина, Л.К. Дильмухаметова, А.Я. Сапронова, М.В. Угрюмов // Доклады академии наук. 2019. – Т. 486. – № 6. – С. 748-752. – doi: 10.31857/S0869-56524866478-752.
80. Нагорный А.В. Проблема старения и долголетия / А.В. Нагорный, В.Н. Никитин, И.Н. Буланкин. – М. : Медгиз, 1963.
81. Насырова Д.И. Развитие центральной и периферической серотонин-продуцирующей систем у крыс в онтогенезе / Д.И. Насырова, А.Я. Сапронова, А.В. Балбашев, В.С. Кудрин, П.М. Клодт, К.С. Раевский, М.В. Угрюмов // Жур. Эволюционной биохимии и физиологии. – 2009. – Т. 45. – № 1. – С. 68-74.
82. Никитина Ю.В., Мухина И.В. Изменения окислительных процессов в ткани головного мозга и крови крыс в раннем онтогенезе / Ю.В. Никитина, И.В. Мухина // Вестник ННГУ. – 2009. – Т. 6. – № 1. – С. 124-131.
83. Николаева И.В. Влияние пренатального эмоционального стресса на развитие головного мозга, надпочечников и гонад крыс в постнатальном онтогенезе / И.В. Николаева, Д.С. Белолубская // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. – 2012. – Т. 9. – № 1. – С. 68-73.
84. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л.; под ред. академика А.Д. Ноздрачева. – СПб. : Издательство «Лань», 2001. – 464 с.
85. Овсянникова О.А. Содержание ФНО- α и ИЛ-10 на различных этапах постнатального онтогенеза крыс в условиях воздействия газообразных

серосодержащих поллютантов и применения протектора / О.А. Овсянникова // Аспиранский вестник Поволжья. – 2016. – № 5-6. – С. 209-213.

86. Павлов О.В. Иммунология репродукции: старые догмы и новые представления / О.В. Павлов, С.А. Сельков // Журнал акушерства и женских болезней. – 2004. – Т. 53. – № 1. – С. 89-97.

87. Пасюк А.А. Особенности динамики развития тимуса человека и белой крысы в пренатальном онтогенезе / А.А. Пасюк // Актуальные проблемы гистологии, цитологии и эмбриологии: материалы научно-практической конференции, посвящённой 60-летию организации кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ, Гродно, 22 июня 2018 года. – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2018. – С. 109-112.

88. Пасюк А.А. Сравнительный анализ развития тимуса человека и белой крысы в постнатальном онтогенезе / А.А. Пасюк // Весенние анатомические чтения: Сборник статей научно-практической конференции, посвящённой памяти доцента Д.Д. Смирнова, Гродно, 02 июня 2017 года / отв. ред. Е.С. Околокулак. – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет. – 2017. – С. 136-138.

89. Пасюк А.А. Характеристика кровеносного русла тимуса белой крысы в эмбриогенезе / А.А. Пасюк, П.Г. Пивченко // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2006. – Т. 5. – № 3. – С. 20-23.

90. Перцов С.С. Влияние липополисахарида на ноцицептивную чувствительность крыс после однократной длительной стрессорной нагрузки / С.С. Перцов, И.В. Алексеева, А.Ю. Абрамова, А.Ю. Козлов, Е.В. Коплик, Д.А. Лядов, Е.В. Никенина, В.В. Чехлов // Российский журнал боли. – 2019. – Т. 17. – № 3. – С. 11-17.

91. Перцов С.С. Динамика концентрации цитокинов в крови крыс с разными поведенческими характеристиками после острой стрессорной нагрузки / С.С. Перцов, Л.С. Калиниченко, Е.В. Коплик, И.В. Алексеева, Н.В. Кирбаева, Н.Э. Шаранова, А.В. Васильев // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2015. – Т. 101. – № 9. – С. 1032-1041.

92. Перцов С.С. Физиология боли и антиноцицептивной системы. Нейрофизиологические, нейрохимические и иммунные механизмы / С.С. Перцов, В.П. Дегтярев, Н.Д. Сорокина, А.Ю. Абрамова, А.Ю. Козлов – М. : Мозартика, 2021. – 88 с.

93. Перцов С.С. Цитокины как молекулярные факторы нейроиммунной регуляции при стрессе / С.С. Перцов // Материалы XXIII съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова с международным участием, Воронеж, 18 – 22 сентября 2017 года. – Воронеж: Издательство Истоки, 2017. – С. 1159-1161.

94. Петренко В.М. Начальные этапы формирования лимфоидной системы (тимус - краниальные брыжеечные лимфатические узлы) у белой крысы / В.М. Петренко, Е.В. Петренко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 10-1. – С. 79-80.

95. Петров Р.В. Физиология иммунной системы: клеточные и молекулярно-биологические механизмы / Р.В. Петров, Р.М. Хаитов, В.А. Черешнев // Вестник Российского фонда фундаментальных исследований. – 2017. – № S1. – С. 96-119.

96. Петров Ю.А., Купина А.Д. Фетальное программирование – способ предупреждения заболеваний во взрослом возрасте / Ю.А. Петров, А.Д. Купина // Медицинский совет. – 2020. – № 13. – С. 50-56.

97. Пивченко П.Г. Развитие вилочковой железы белой крысы в пренатальном онтогенезе / П.Г. Пивченко, А.А. Пасюк // Проблемы здоровья и экологии. – 2006. – Т. 2. – № 8. – С. 121-127.

98. Повещенко А.Ф. Онтогенетические и гендерные особенности цитокинового профиля лимфы и сыворотки крови крыс / А.Ф. Повещенко, Н.Б. Орлов, О.В. Казаков, О.В. Повещенко, В.И. Чепик, И.И. Ким, Н.А. Бондаренко, Т.В. Миллер, Д.Н. Стрункин, Л.М. Узварик, А.В. Кабаков, Т.В. Москальчук, В.И. Коненков // Сибирский научный медицинский журнал. – 2014. – Т. 34. – № 5. – С. 5-10.

99. Рабинович О.Ф. Роль цитокинов и иммуноглобулинов ротовой жидкости в генезе аутоиммунных заболеваний слизистой оболочки рта / О.Ф.

Рабинович, И.М. Рабинович, Е.С. Абрамова // Стоматология. – 2019. – Т. 98. – № 6-2. – С. 42-45. – doi: 10.17116/stomat20199806242.

100. Рыбакина Е.Г. Механизмы нейро-иммунных взаимодействий при стрессе и подходы к их коррекции / Е.Г. Рыбакина, С.Н. Шанин, Е.Е. Фомичева, Т.А. Филатенкова, Е.В. Дмитриенко, Э.Н. Каплина // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2. – С. 120-123.

101. Рыжавский Б.Я. Влияние эмоционального стресса беременных крыс на показатели развития головного мозга их 21-дневного потомства / Б.Я. Рыжавский, Т.В. Соколова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2002. – № 4. – С. 28-31.

102. Сазонова Е.Н. Фетальное программирование патологии сердца / Е.Н. Сазонова, О.В. Каплиева, О.А. Лебедько, Н.А. Цимбалист, И.Г. Яковенко, Ю.Б. Малофей // Дальневосточный медицинский журнал. – 2019. – № 3. – С. 106-115.

103. Сайфетярова Ю.Ю. Развивающийся мозг как эндокринный источник норадреналина в крови / Ю.Ю. Сайфетярова, В.И. Мельникова, А.Я. Сапронова, М.В. Угрюмов // Доклады Академии наук. – 2014. – Т. 454. – № 3. – С. 355. – doi: 10.7868/S0869565214030281.

104. Салехов С.А. Патогенетический анализ достоверности критериев классической триады стресса Г. Селье / С.А. Салехов // Вестник Новгородского государственного университета. – 2019. – № 3 (115). – С. 28-30. – doi: 10.34680/2076-8052.2019.3(115).28-30.

105. Сандакова Е.А. Фетальное программирование / Е.А. Сандакова, И.Г. Жуковская // Медицинский алфавит. – 2019. – Т. 2. – № 14 (389). – С. 17-20. – doi: 10.33667/2078-5631-2019-2-14(389)-17-20.

106. Сахаров П.П. Лабораторные животные: Их болезни, некоторые биологические особенности и зоотехнические основы содержания, кормления и разведения / П.П. Сахаров; с предисл. проф. Г.П. Сахарова. – М. ; Л. : Гос. изд. биол. и мед. литературы, 1937. – 271 с.

107. Сарсен А.А. Органы иммунной системы белых крыс в раннем онтогенезе / А.А. Сарсен, М. Жанузаккызы, Ж.А. Темирова, У. Ермаханбет //

Студент года 2020: сборник статей XIII Международного научно-исследовательского конкурса, Пенза, 05 мая 2020 года. – Пенза: "Наука и Просвещение" (ИП Гуляев Г.Ю.), 2020. – С. 287-293.

108. Сарыева О.П. Морфология тимуса, селезёнки, надпочечников и особенности физического развития крыс под влиянием гуминовых соединений : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.00.25, 14.00.15 / Сарыева Ольга Павловна. – М., 2006. – 23 с.

109. Светлов П.Г. Теория критических периодов развития и её значение для понимания принципов действия среды на онтогенез. – В кн.: Вопросы цитологии и общей физиологии / П.Г. Светлов. – М. – Л., Изд-во АН СССР, 1960. – 263-285 с.

110. Светлов П.Г. Физиология (механика) развития. Т.1. Процессы морфогенеза на клеточном и организменном уровнях / П.Г. Светлов. – Л. : «Наука», 1978. – 279 с.

111. Светлов П.Г. Физиология (механика) развития. Т.2. Внутренние и внешние факторы развития. / П.Г. Светлов. – Л. «Наука», 1978. – 264 с.

112. Сивакова Л.В. Строение тимуса нелинейных белых крыс при остром стрессе / Л.В. Сивакова, Е.И. Самоделкин, О.В. Маткина, В.А. Черешнев // Морфология. – 2014. – Т. 145. – № 3. – С. 175-176.

113. Симбирцев А.С. Интерлейкин-1. Физиология. Патология. Клиника [Текст] / А.С. Симбирцев. – СПб: Фолиант, 2011. – 473 с.

114. Симонова Е.Ю. Возрастные изменения морфофункционального состояния иммунной системы у крыс Вистар / Е.Ю. Симонова, А.М. Косырева, О.В. Макарова, М.Е. Диатроптов // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2014. – № 1 (9). – С. 35-41.

115. Симонова Е.Ю. Половые различия и возрастные особенности морфофункционального состояния иммунной системы у крыс Вистар : автореф. дис. ...канд.биол.наук: 03.03.04 / Симонова Евгения Юрьевна.–Москва,2013.–24 с.

116. Соколова Н.А. Стресс на ранних стадиях онтогенеза: пептидергическая коррекция / Н.А. Соколова, А.В. Граф, М.В. Маслова,

Маклакова А.С., Хиразова Е.Э.; под редакцией А.А. Каменского. Москва: Товарищество науч. изд. КМК, 2016. – 255 с.

117. Солодков А.П. Провоспалительные цитокины и эндотелийзависимая дилатация при остром стрессе / А.П. Солодков, Н.М. Яцковская, Н.А. Крайнова, И.Н. Нечаев, Е.Н. Князев, Д.Г. Максименко // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса : Материалы III Международной научно-практической конференции, Витебск, 16-17 апреля 2013 года. – Витебск: Витебский государственный университет им. П.М. Машерова, 2013. – С. 83-87.

118. Солодков А.П. Стресс, адаптация и цитокины / А.П. Солодков, Н.М. Яцковская // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса : Материалы международной научно-практической конференции, Витебск, 10 июня 2010 года. – Витебск : Витебский государственный университет им. П.М. Машерова, 2010. – С. 13-19.

119. Смоленский И.В. Влияние пренатального стресса на формирование гормональных и поведенческих нарушений у самцов крыс в модели посттравматического стрессового расстройства : автореф. дис. ... канд.биол. наук : 03.03.01 / Смоленский Илья Вадимович. – СПб, 2018. – 17 с.

120. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Т.В. Абрашова, Я.А. Гущин, М.А. Ковалева, А.В. Рыбакова, А.И. Селезнева, А.П. Соколова, С.В. Ходько – СПб. : Изд-во «ЛЕМА». 2013. – 116 с.

121. Сташкевич Д.С. Актуальные вопросы иммунологии: система цитокинов, биологическое значение, генетический полиморфизм, методы определения: учебное пособие / Д.С. Сташкевич, Ю.Ю. Филиппова, А.Л. Бурмистрова. – Челябинск : Цицеро, 2016. – 81 с.

122. Степаничев М.Ю. Умеренный хронический стресс повышает экспрессию генов провоспалительных цитокинов в мозге крыс / М.Ю. Степаничев, Д.И. Перегуд, А.О. Манолова, Н.А. Лазарева, М.В. Онуфриев, Н.В. Гуляева // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2018. – № 2. – С. 209-215. – doi: 10.7868/S0002332918020108.

123. Субботина А.Ю. Влияние пренатального стресса на ноцицептивную чувствительность самцов и самок крыс в разные периоды постнатального развития / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева, А.Ю. Абрамова, А.Ю. Козлов, Е.В. Никенина, О.В. Сергиенко, С.С. Перцов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2022 (а). – Т. 19. – № 1. – С. 173-178. – doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-173-178.

124. Субботина А.Ю. Влияние пренатального стресса на цитокиновый профиль крыс разного пола и возраста / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева // Материалы Конференции молодых учёных «Актуальные проблемы биологии развития», 12-14 октября 2021 г., Москва, ИБР РАН. – М. Издательство Перо, 2021 (а). – С. 81.

125. Субботина А.Ю. Влияние пренатального стресса плавания в холодной воде на ноцицептивную чувствительность крыс разного пола и возраста / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: Материалы 79-й международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов; под ред. М.Е. Стаценко – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2021 (б). – С. 286-287.

126. Субботина А.Ю. Возрастные и гендерные особенности показателей цитокинового профиля крови у крыс после пренатального стресса / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева, А.М. Ратмиров, А.Ю. Абрамова, И.В. Алексеева, С.С. Перцов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022 (б). – Т. 174. – № 9. – С. 278-283. – doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-278-283.

127. Субботина А.Ю. Изменения болевой чувствительности и иммунных показателей крыс разного пола и возраста, перенёсших пренатальный стресс / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева, С.С. Перцов // Современные проблемы системной регуляции физиологических функций: Тезисы докладов IV Междисциплинарной конференции с международным участием, посвящённая 90-летию со дня рождения академика К.В. Судакова, Москва, 06–08 июля 2022 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

"Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина", 2022 (в). – С. 487-490.

128. Субботина А.Ю. Изменение болевой чувствительности у крыс в онтогенезе после внутриутробного стресса / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева, С.С. Перцов // Физиология и физика в современной медицине: Сборник материалов, Москва, 14 апреля 2022 года. – Москва: Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2022 (г). – С. 99-100.

129. Субботина А.Ю. Исследование иммунокомпетентных органов крыс разного пола и возраста, перенёсших стресс плавания в холодной воде в период эмбрионального развития / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева // Проблемы медицины и биологии: материалы Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов (Кемерово, 22-23 апреля 2021 г.) Часть 2 / отв. ред. А.С. Сухих, Д.Ю. Кувшинов. – Кемерово: КемГМУ, 2021 (в). – С. 398.

130. Субботина А.Ю. Корреляционные связи между ноцицептивными и иммунными показателями у крыс разного пола и возраста после пренатального стресса / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева, А.Ю. Абрамова, С.С. Перцов // Медицинская физика, физиология и смежные дисциплины в академической и вузовской науке: Сборник тезисов конференции с международным участием, посвящённой 100-летию МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, 17 – 18 ноября 2022 года. – Москва: Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, 2022 (д). – С. 468-471.

131. Субботина А.Ю. Цитокиновый профиль периферической крови крыс разного возраста и пола после пренатального стресса / А.Ю. Субботина, А.С. Мартюшева // Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье: Материалы XXV Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, Санкт-Петербург, 16 апреля 2022 года. Том XXV; под ред. И.Ю. Пчелина. – Санкт-Петербург: Сциентия, 2022 (е). – Т. 15. – С. 541-542.

132. Суханова Ю.А. Острые и отставленные эффекты перинатального гипоксического повреждения мозга у детей и в модельных экспериментах на

грызунах / Ю.А. Суханова, Е.А. Себенцова, Н.Г. Левицкая // Нейрохимия. – 2016. – Т. 33. – № 4. – С. 276-292. – doi: 10.7868/S1027813316040129.

133. Тельцов Л.П. Вивогенез и критические фазы развития человека и животных / Л.П. Тельцов, Т.А. Романова, В.А. Здоровинин, И.Р. Шашанов, И.В. Добрынина, Н.А. Кудakov, В.Н. Родин // Фундаментальные исследования. – 2008. – № 12. – С. 9-12.

134. Токарев А.Р. Нейро-цитокиновые механизмы острого стресса (обзор литературы) / А.Р. Токарев // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2019. – № 3. – С. 194-204. – doi: 10.24411/2075-4094-2019-16469.

135. Токин Б.П. Общая эмбриология: Учеб. для биол. спец. ун-тов, 4-е изд., перераб. и доп. / Б.П. Токин – 1987.

136. Толстова Е.М. Физиология и патология тимуса в детском возрасте / Е.М. Толстова, О.В. Зайцева // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского, 2018. – № 6.

137. Тополянская С.В. Фактор некроза опухоли-альфа и возраст-ассоциированная патология / С.В. Тополянская // Архивъ внутренней медицины, 2020. – № 6 (56). – С. 414-420.

138. Трипольская Н.А. Нарушение эмбриогенеза после охлаждения крыс в ранние сроки беременности : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Трипольская Нэлла Абрамовна. – Л., 1967. – 17 с.

139. Трошина Е.А. Роль цитокинов в процессах адаптивной интеграции иммунных и нейроэндокринных реакций организма / Е.А. Трошина // Проблемы Эндокринологии. – 2021. – № 67 (2). – С. 4-9. – doi: 10.14341/probl12744.

140. Усмонов У.Р. Изменение морфофункциональных особенностей тимуса, селезёнки и лимфоидной системы под влиянием факторов различного происхождения / У.Р. Усмонов, Ш.Х. Собиров, О.О. Жахонов // Новый день в медицине. – 2021. – № 2 (34). – С. 382-385.

141. Хасанов Б.Б. Структурно-функциональные особенности селезёнки / Б.Б. Хасанов // Достижения науки и образования – 2022. – Т. 5. – № 85. – С. 66-72.

142. Цветикова Л.Н. Роль фактора некроза опухоли- α в развитии оксидативного стресса и воспаления / Л.Н. Цветикова, Д.А. Атякшин, Н.В. Лобеева // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2015. – № 61. – С. 20-23.

143. Цомартова Э.С. Морфологические и цитофизиологические изменения тимуса крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана в пренатальном и постнатальном периодах : дис. ... канд. мед. наук : 03.03.04 / Цомартова Элина Сослановна. – М., 2020. – 125 с.

144. Чернов Д.А. Иммуноморфология селезёнки при действии гомо- и гетеротипических стрессоров на разных этапах онтогенеза: дисс. ... канд. мед. наук : 03.03.04 / Чернов Дмитрий Александрович. – М., 2018.

145. Чехлов В.В. Корреляция показателей ноцицепции и иммунных параметров у крыс с разной поведенческой активностью в условиях хронического стресса / В.В. Чехлов, А.Ю. Абрамова, С.С. Перцов // Российский журнал боли. – 2019. – Т. 17. – № S1. – С. 26-27.

146. Чуян Е.Н. Особенности ноцицепции при гипокинетическом стрессе / Е.Н. Чуян, Т.В. Заячникова, М.Ю. Раваева, Е.А. Бирюкова // Молодая наука: сборник научных трудов научно-практической конференции для студентов и молодых учёных, Евпатория, 10-11 ноября 2016 года. – Евпатория: Общество с ограниченной ответственностью «Издательство Типография «Ариал», 2016. – С. 444-445.

147. Федорова О.В. Механизм стресс-индуцированной иммуномодуляции тимуса при воздействии хронического стресса в раннем постнатальном периоде / О.В. Федорова, Ю.А. Глухова, Л.В. Вондрачек, С.В. Фёдоров, И.А. Дворяшина, А.М. Лавенюков // Морфология. – 2016. – Т. 149. – № 3. – С. 214-215.

148. Фетисов С.О. Морфологические изменения селезёнки крыс в условиях иммобилизационного стресса / С.О. Фетисов, Г.Г. Вердиян, А.А. Бахмет, Д.А. Соколов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2021. – №3 (93).–С.60-64.

149. Янкелевич И.А. Влияние хронического эмоционально-физического стресса на показатели нейроэндокринной и иммунной систем / И.А. Янкелевич,

Т.А. Филатенкова, М.В. Шустов // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 1. – С. 85-90.

150. Ярилин А.А. Иммунология / А.А. Ярилин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.

151. Шаравьева И.Л. Влияние различных моделей холодового стресса на продукцию цитокинов клетками перитонеальной полости мыши в условиях блокады опиатных рецепторов / И.Л. Шаравьева, С.В. Гейн // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 5. – С. 236. – doi: 10.17816/MAJ191S1236.

152. Шефер Е.Г. Постстрессовая иммуноморфология селезёнки в раннем постнатальном онтогенезе / Е.Г. Шефер, Ю.В. Дегтярь, А.И. Краюшкин // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2010. – № 11. – С. 47-48.

153. Щербаков В.И. Современные представления о фетальном программировании / В.И. Щербаков, Т.И. Рябиченко, Г.А. Скосырева // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2012. – Т. 10. – № 3. – С. 210-221.

154. Bâ A. Functional development of central nervous system in the rat: Ontogeny of nociceptive thresholds / A. Bâ, B.V. Seri // Physiol. Behav. – 1993. – Vol. 54. – N. 2. – P. 403-405. – doi: 10.1016/0031-9384(93)90130-8.

155. Bardin L. Chronic restraint stress induces mechanical and cold allodynia, and enhances inflammatory pain in rat: Relevance to human stress-associated painful pathologies. / L. Bardin, N. Malfetes, A. Newman-Tancredi, R. Depoortère // Behav Brain Res. – 2009. – Vol. 205. – N. 2. – P. 360-6. – doi: 10.1016/j.bbr.2009.07.005.

156. Bodnar R.J. Stress-induced analgesia: Adaptation following chronic cold water swims / R.J. Bodnar, D.D. Kelly, A. Spiaggia, M. Glusman // Bulletin of the Psychonomic Society. – 1978. – Vol. 11. – N. 6. – P. 337-340. – doi:10.3758/bf03336847.

157. Boyanova L. Stress hormone epinephrine (adrenaline) and norepinephrine (noradrenaline) effects on the anaerobic bacteria / L. Boyanova // *Anaerobe*. – 2017. – N. 44. – P.13-19. – doi: 10.1016/j.anaerobe.2017.01.003.
158. Burke N.N. Neuroinflammatory Mechanisms Linking Pain and Depression / N.N. Burke, D.P. Finn, M. Roche // *Mod Trends Pharmacopsychiatry*. – 2015. – N. 30. – P. 36-50. – doi: 10.1159/000435931.
159. Butler R.K. Stress-induced analgesia / R.K. Butler, D.P. Finn // *Progress in Neurobiology*. – 2009. – Vol. 88. – N. 3. – P. 184-202. – doi:10.1016/j.pneurobio.2009.04.003.
160. Chirico G. Development of the immune system in neonates / G. Chirico // *J. Arab. Neonatal Forum*. – 2005. – N. 2. – P. 5-11.
161. Choi S.-J. Gestational Cocaine Exposure Alters Postnatal Pituitary-Adrenal Axis Activity and Stress Endurance in Rat / S.-J. Choi, E.A. Mazzio, R.R. Reams, K.F.A. Soliman // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1998. – Vol. 844. – N. 1. – P. 336-345. – doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb08248.x.
162. Clancy B. Translating developmental time across mammalian species / B. Clancy, R.B. Darlington, B.L. Finlay // *Neuroscience*. – 2001. – Vol. 105. – N. 1. – P. 7-17. – doi: 10.1016/s0306-4522(01)00171-3.
163. Clancy B. Web-based method for translating neurodevelopment from laboratory species to humans / B. Clancy, B. Kersh, J. Hyde, R.B. Darlington, K.J. Anand, B.L. Finlay // *Neuroinformatics*. – 2007. – Vol. 5. – N. 1. – P. 79-94. – doi: 10.1385/ni:5:1:79.
164. De Almeida da Anunciação A.R. Central nervous system development in rabbits (*Oryctolagus cuniculus* L. 1758) / A.R. De Almeida da Anunciação, P.O. Favaron, L. De Moraes-Pinto, C.M.F. De Carvalho, D. Dos Santos Martins, D. Conei, M. Del Sol, B. Vásquez, M.A. Miglino // *Anat. Rec. (Hoboken)*. – 2021. – Vol. 304. – N. 6. – P. 1313-1328. – doi: 10.1002/ar.24586.
165. Dipietro J. The role of prenatal maternal stress in child development / J. Dipietro // *Current Directions in Psychological Science*. – 2004. – Vol. 13. – N. 2. – P. 71-74. – doi: 10.1111/j.0963-7214.2004.00277.x.

166. Farghaly H.S.M. Effect of dexmedetomidine and cold stress in a rat model of neuropathic pain: Role of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α / H.S.M. Farghaly, A.M. Mahmoud, K.A. Abdel-Sater // *European Journal of Pharmacology*. – 2016. – N. 776. – P. 139-145. – doi: 10.1016/j.ejphar.2016.02.046.
167. Feng J.H. Modulation of corticosterone and changes of signal molecules in the HPA axis after cold water swimming stress / J.H. Feng, S.M. Sim, J.S. Park, J.S. Hong, H. Suh // *Animal Cells and Systems*. – 2021. – Vol. 25. – N. 1. – P. 37-45. – doi:10.1080/19768354.2021.1890211.
168. Feriani D.J. Spleen tissue changes after restraint stress: effects of aerobic exercise training / D.J. Feriani, A.S. Sousa, M.A. Delbin, O.M. Ruberti, C.C. Crestani, B. Rodrigues // *Stress*. – 2021. – Vol. 24. – N. 5. – P. 572-583. – doi:10.1080/10253890.2021.1895112.
169. Hamm R.J. Adaptation of body temperature and nociception to cold stress in preweanling rats / R.J. Hamm, J.S. Knisely, C.M. Lyons // *Physiology & Behavior*. – 1990. – Vol. 47. – N. 5. – P. 895-897. – doi: 10.1016/0031-9384(90)90015-v.
170. Hamm R.J. Ontogeny of an endogenous, nonopioid and hormonally mediated analgesic system / R.J. Hamm, J.S. Knisely // *Developmental Psychobiology*. – 1987. – Vol. 20. – N. 5. – P. 539-548. – doi: 10.1002/dev.420200507.
171. Henry C. Prenatal Stress Increases the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis Response in Young and Adult Rats / C. Henry, M. Kabbaj, H. Simon, M. Moal, S. Maccari // *Journal of Neuroendocrinology*. – 1994. – Vol. 6. – N. 3. – P. 341-345. – doi:10.1111/j.1365-2826.1994.tb00591.x.
172. Himmerich H. Stress-induced cytokine changes in rats / H. Himmerich, J. Fischer, K. Bauer, K.C. Kirkby, U. Sack, U. Krügel // *Eur. Cytokine Netw.* – 2013. – Vol. 24. – N. 2. – P. 97-103. – doi: 10.1684/ecn.2013.0338.
173. Holsapple M.P. Species comparison of anatomical and functional immune system development / M.P. Holsapple, L.J. West, K.S. Landreth // *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*. – 2003. – Vol. 68. – N. 4. – P. 321-334. – doi:10.1002/bdrb.10035.

174. Hormozi A. Effects of Post-Weaning Chronic Stress on Nociception, Spinal Cord μ -Opioid, and $\alpha 2$ -Adrenergic Receptors Expression in Rats and Their Offspring / A. Hormozi, A. Zarifkar, M. Tatar, M. Barazesh, B. Rostami // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2018. – Vol. 64. – N. 4. – P. 567-573. – doi:10.1007/s12031-018-1068-4.
175. Hrapkiewicz K. Clinical laboratory animal medicine. / K. Hrapkiewicz, L. Colby, P. Denison. – an introduction. 4-th edition, 2013.
176. Hsieh Y.L. Early Intervention of Cold-Water Swimming on Functional Recovery and Spinal Pain Modulation Following Brachial Plexus Avulsion in Rats / Y.L. Hsieh, N.P. Yang, S.F. Chen, Y.L. Lu, C.C. Yang // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23. – N. 3. – P. 1178. – doi: 10.3390/ijms23031178.
177. Huber G.C. The development of the albino rat, *Mus norvegicus albinus*. I. From the pronuclear stage to the stage of mesoderm anlage; end of the first to the end of the ninth day / G.C. Huber // *Journal of Morphology*. – 1915. – N. 26 (2). – P. 247-358.
178. IASP Taxonomy [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/#pain>.
179. García-Díaz E.C. Oxidative status in testis and epididymal sperm parameters after acute and chronic stress by cold-water immersion in the adult rat / E.C. García-Díaz, L.E. Gómez-Quiroz, E. Arenas-Ríos, A. Aragón-Martínez, J.A. Ibarra-Arias, M. del Socorro I Retana-Márquez // *Syst. Biol. Reprod. Med.* – 2015. – Vol. 61. – N. 3. – P. 150-60. – doi: 10.3109/19396368.2015.1008071.
180. García-Vargas D. Prenatal stress decreases sperm quality, mature follicles and fertility in rats / D. García-Vargas, L. Juárez-Rojas, S. Rojas Maya, S. Retana-Márquez // *Systems Biology in Reproductive Medicine*. – 2019. – P. 1-13. – doi:10.1080/19396368.2019.1567870.
181. Giordano V. Pain and Sedation Scales for Neonatal and Pediatric Patients in a Preverbal Stage of Development: A Systematic Review / V. Giordano, J. Edobor, P. Deindl, B. Wildner, K. Goeral, P. Steinbauer, T. Werther, A. Berger, M. Olischar // *JAMA Pediatr.* – 2019. – Vol. 173. – N. 12. – P. 1186-1197. – doi:10.1001/jamapediatrics.2019.3351.

182. Götz A.A. Psychosocial maternal stress during pregnancy affects serum corticosterone, blood immune parameters and anxiety behaviour in adult male rat offspring / A.A. Götz, V. Stefanski // *Physiology & Behavior*. – 2007. – Vol. 90. – N. 1. – P. 108-115. – doi: 10.1016/j.physbeh.2006.09.014.

183. Götz A.A. Maternal social stress during pregnancy alters immune function and immune cell numbers in adult male Long–Evans rat offspring during stressful life-events / A.A. Götz, S. Wittlinger, V. Stefanski // *Journal of Neuroimmunology*. – 2007. – Vol. 185. – N. 1-2. – P. 95-102. – doi:10.1016/j.jneuroim.2007.01.019.

184. Gundle L. Pregnancy, cold water swimming and cortisol: The effect of cold water swimming on obstetric outcomes / L. Gundle, A. Atkinson // *Medical Hypotheses*. – 2020. – Vol. 144. – N. 109977. – P. 1-5. – doi:10.1016/j.mehy.2020.109977.

185. Kalinichenko L.S. Cytokine profile of peripheral blood in rats with various behavioural characteristics during acute emotional stress / L.S. Kalinichenko, E.V. Koplik, S.S. Pertsov // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2014. – Vol.156.–N.4. – P.441-444.

186. Kapoor A. Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids / A. Kapoor, E. Dunn, A. Kostaki, M.H. Andrews, S.G. Matthews // *The Journal of Physiology*. – 2006. – Vol. 572. – N. 1. – 31-44. – doi: 10.1113/jphysiol.2006.105254.

187. Keogh E. Sex differences in perceptions of pain coping strategy usage / E. Keogh, S. Denford // *European Journal of Pain*. – 2009. – Vol. 13. – N. 6. – P. 629-634. – doi: 10.1016/j.ejpain.2008.07.002.

188. Kramer E. Age-related decrements in the analgesic response to cold-water swims / E. Kramer, R.J. Bodnar // *Physiol Behav*. – 1986. – Vol. 36. – N. 5. – P. 875-80. – doi: 10.1016/0031-9384(86)90446-4.

189. Lafrance M. Involvement of NTS2 receptors in stress-induced analgesia / M. Lafrance, G. Roussy, K. Belleville, H. Maeno, N. Beaudet, K. Wada, P. Sarret // *Neuroscience*. – 2010. – Vol. 166. – N. 2. – P. 639-652. – doi:10.1016/j.neuroscience.2009.12.042.

190. Lautarescu A. Prenatal stress: Effects on fetal and child brain development / A. Lautarescu, M.C. Craig, V. Glover // *Stress and Brain Health: Across the Life Course*. – 2020. – P. 17-40. – doi: 10.1016/bs.irm.2019.11.002.
191. Le Bars D. Animal Models of Nociception / D. Le Bars, M. Gozariu, S.W. Cadden // *Pharmacological Reviews*. – 2001. – Vol. 53. – N. 4. – P. 597-652.
192. Lesage J. Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat / J. Lesage // *Journal of Endocrinology*. – 2004. – Vol. 181. – N. 2. – P. 291-296.
193. Llorente E. Effect of prenatal stress on the hormonal response to acute and chronic stress and on immune parameters in the offspring / E. Llorente, M.L. Brito, P. Machado, M.C. González // *J. Physiol. Biochem.* – 2002. – Vol. 58. – N. 3. – P. 143-9. – doi: 10.1007/BF03179851.
194. Loukov D. Tumor necrosis factor drives increased splenic monopoiesis in old mice / D. Loukov, A. Naidoo, A. Puchta, J.L.A. Marin, D.M.E. Bowdish // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2016. – Vol. 100. – N. 1. – P. 121-129. – doi:10.1189/jlb.3ma0915-433rr.
195. Martinez C.A. Prenatal stress, anxiety and depression alter transcripts, proteins and pathways associated with immune responses at the maternal-fetal interface / C.A. Martinez, I. Marteinsdottir, A. Josefsson, G. Sydsjö, E. Theodorsson, H. Rodriguez-Martinez // *Biol. Reprod.* – 2022. – Vol. 106. – N. 3. – P. 449-462. – doi:10.1093/biolre/ioab232.
196. Maxwell L.G. Assessment of Pain in the Newborn: An Update / L.G. Maxwell, M.V. Fraga, C.P. Malavolta // *Clin. Perinatol.* – 2019. – Vol. 46. – N. 4. – P. 693-707. – doi: 10.1016/j.clp.2019.08.005.
197. McPherson C. Practical approaches to sedation and analgesia in the newborn / C. McPherson, C.M. Ortinau, Z. Vesoulis // *J. Perinatol.* – 2021. – Vol. 41. – N. 3. – P. 383-395. – doi: 10.1038/s41372-020-00878-7.
198. McPherson C. The influence of pain, agitation, and their management on the immature brain / C. McPherson, S.P. Miller, M. El-Dib, A.N. Massaro, T.E. Inder // *Pediatr Res.* – 2020. – Vol. 88. – N. 2. – P. 168-175. – doi: 10.1038/s41390-019-0744-6.

199. Nayak B.N. Functions of Spleen in Health and Disease / B.N. Nayak, H. Buttar // J. Pharm. Sci. Tech. Mgmt. – 2015. – Vol. 1.
200. Nguyen A.T. Neurodevelopmental Reflex Testing in Neonatal Rat Pups / A.T. Nguyen, E.A. Armstrong, J.Y. Yager // J. Vis. Exp. – 2017. – Vol. 24. – N. 122. – P. 55261. – doi: 10.3791/55261.
201. Perry M. Neonatal Pain: Perceptions and Current Practice / M. Perry, Z. Tan, J. Chen, T. Weidig, W. Xu, X.S. Cong // Crit Care Nurs Clin North Am. – 2018. – Vol. 30. – N. 4. – P. 549-561. – doi: 10.1016/j.cnc.2018.07.013.
202. Porter F.L. Long-term effects of pain in infants / F.L. Porter, R.E. Grunau, K.J.S. Anand // J. Dev. Behav. Pediatr. – 1999. – Vol. 20. – N. 4. – P. 253-61. – doi: 10.1097/00004703-199908000-00008.
203. Rajkumar R. Stress activates the nucleus incertus and modulates plasticity in the hippocampo-medial prefrontal cortical pathway / R. Rajkumar, Y. Wu, U. Farooq, W.H. Tan, G.S. Dawe // Brain Research Bulletin. – 2016. – N. 120. – P. 83-89. – doi: 10.1016/j.brainresbull.2015.10.010.
204. Rokyta R. Prenatal and perinatal factors influencing nociception, addiction and behavior during ontogenetic development / R. Rokyta, A. Yamamotová, R. Slambergová, M. Franek, S. Vaculín, L. Hrubá, B. Schutová, M. Pometlová // Physiol. Res. – 2008. – N. 3. – P. 79-88. – doi: 10.33549/physiolres.931602.
205. Roshan-Milani S. Prenatal stress and increased susceptibility to anxiety-like behaviors: role of neuroinflammation and balance between GABAergic and glutamatergic transmission / S. Roshan-Milani, B. Seyyedabadi, E. Saboory, N. Parsamanesh, N. Mehranfard // Stress. – 2021. – Vol. 24. – N. 5. – P. 481-495. – doi:10.1080/10253890.2021.1942828.
206. Sarjan H.N. Duration dependent effect of chronic stress on primary and secondary lymphoid organs and their reversibility in rats / H.N. Sarjan, H.N. Yajurvedi // Immunobiology. – 2019. – Vol. 224. – N. 1. – P. 133-141. – doi:10.1016/j.imbio.2018.09.007.
207. Selye H.A. Syndrome produced by diverse nocuous agents / H.A. Selye // Nature. – 1936. – Vol. 138. – N. 32. – doi: 10.1038/138032a0.

208. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's / P. Sengupta // *Int. J. Prev. Med.* – 2013. – Vol. 4 – N. 6. – P. 624-30.
209. Shi M. Depression shows divergent effects on evoked and spontaneous pain behaviors in rats / M. Shi, J.Y. Wang, F. Luo // *J. Pain.* – 2010. – Vol. 11. – N. 3. – P. 219-29. – doi: 10.1016/j.jpain.2009.07.002.
210. Shu J. Modulation of cellular immune responses by cold water swim stress in the rat / J. Shu, J.R. Stevenson, X. Zhou // *Developmental & Comparative Immunology.* – 1993. – Vol. 17. – N. 4. – P. 357-371. – doi: 10.1016/0145-305x(93)90007-d.
211. Silveira A.S. Oxidative stress effects in the uterus, placenta and fetus of pregnant rats submitted to acute and chronic stress / A.S. Silveira, R.D. Aydos, R.T. Ramalho, I.S. Silva, R.A. Caldas, A.T.D. Santos Neto, C.T. Rodrigues // *Acta Cir Bras.* – 2018. – Vol. 33. – N. 9. – P. 806-815. – doi: 10.1590/s0102-865020180090000009.
212. Ślusarczyk J. Prenatal stress is a vulnerability factor for altered morphology and biological activity of microglia cells / J. Ślusarczyk, E. Trojan, K. Głombik, B. Budziszewska, M. Kubera, W. Lasoń, K. Popiołek-Barczyk, J. Mika, K. Wędzony, A. Basta-Kaim // *Front Cell Neurosci.* – 2015. – N. 9. – P. 82. – doi:10.3389/fncel.2015.00082.
213. Subbotina A.Y. Age and Sex Characteristics of the Blood Cytokine Profile in Rats Subjected to Prenatal Stress / A.Y. Subbotina, A.S. Martyusheva, A.M. Ratmirov, A.Y. Abramova, I.V. Alekseeva, S.S. Pertsov // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2023. – Vol. 174. – N. 3. – P. 299-303. – doi: 10.1007/s10517-023-05695-4.
214. Suckow M.A. The laboratory rat / M.A. Suckow, S.H. Weisbroth, C.L. Franklin – Elsevier Academic Press, 2005. – 928 p.
215. Szuran T.F. Prenatal stress effects on exploratory activity and stress-induced analgesia in rats / T.F. Szuran, E. Zimmerman, V. Pliska, H.P. Pfister, H. Welzl // *Developmental Psychobiology.* – 1991. – Vol. 24. – N. 5. – P. 361-372. – doi:10.1002/dev.420240505.

216. Szuran T.F. Prenatal stress in rats: effects on plasma corticosterone, hippocampal glucocorticoid receptors, and maze performance / T.F. Szuran, V. Pliška, J. Pokorny, H. Welzl // *Physiology & Behavior*. – 2000. – Vol. 71. – N. 3-4. – P.353-362.

217. Ugrumov M.V. Developing brain as an endocrine organ: a paradoxical reality / M.V. Ugrumov // *Neurochem Res*. – 2010. – Vol. 35. – N. 6. – P. 837-50. – doi:10.1007/s11064-010-0127-1.

218. Ugrumov M.V. Endocrine functions of the brain in adult and developing mammals / M.V. Ugrumov // *Russian Journal of Development Biology*. – 2009. – Vol. 40. – N. 1. – P. 14-22.

219. Verstraeten B.S.E. Multiple prenatal stresses increase sexual dimorphism in adult offspring behavior / B.S.E. Verstraeten, J.K. McCreary, E.A. Falkenberg, X. Fang, S. Weyers, G.A.S. Metz, D.M. Olson // *Psychoneuroendocrinology*. – 2019. – N. 107. – P. 251-260. – doi: 10.1016/j.psyneuen.2019.05.003.

220. Wang D. Effect of cold stress on ovarian & uterine microcirculation in rats and the role of endothelin system / D. Wang, X. Cheng, H. Fang, Y. Ren, X. Li, W. Ren, B. Xue, C. Yang // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2020 (a). – Vol. 18. – N. 1. – P. 29.

221. Wang D. Effects of modified Wenjing decoction on microcirculation in reproductive organs in rats with symptom patterns of cold coagulation and blood stasis / D. Wang, X. Cheng, H. Fang, Y. Ren, X. Li, W. Ren, B. Xue, C. Yang // *J. Tradit. Chin. Med*. – 2020 (6). – Vol. 40. – N. 2. – P. 212-223.

222. Welker H.A., Vollrath L. The effects of a number of short-term exogenous stimuli on pineal serotonin-N-acetyltransferase activity in rats / H.A. Welker, L. Vollrath // *Journal of Neural Transmission*. – 1984. – Vol. 59. – N. 1. – P. 69-80.

223. Williams M. Maternal inflammation results in altered tryptophan metabolism in rabbit placenta and fetal brain / M. Williams, Z. Zhang, E. Nancea, J.L. Drewes, W.G. Lesniak, S. Singh, D.C. Chugani, K. Rangaramanujam, D.R. Graham, S. Kannan // *Dev. Neurosci*. – 2017. – Vol. 39. – N. 5. – P. 399-412.

224. Workman A.D. Modeling transformations of neurodevelopmental sequences across mammalian species / A.D. Workman, C.J. Charvet, B. Clancy, R.B.

Darlington, B.L. Finlay // J. Neurosci. – 2013. – Vol. 33. – N. 17. – P. 7368-83. – doi:10.1523/JNEUROSCI.5746-12.2013.

225. Zakharova L.A. Prenatal stress in programming of immune and neuroendocrine system development / L.A. Zakharova // Medical Academic Journal. – 2019. – Vol. 19. – N. S. – P. 124-126. – doi: 10.17816/MAJ191S1124-126.