



ПРЕНАТАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ ПАТОЛОГИИ В АСПЕКТЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ



А.Г. РЕЗНИКОВ

д. мед. н., профессор,
академик НАМНУ,
член-корреспондент НАНУ,
заведующий отделом
эндокринологии репродукции
и адаптации ГУ «Институт
эндокринологии и обмена
веществ им. В.П. Комиссаренко
НАМН Украины»

Контакты:

Резников Александр Григорьевич
ГУ «Институт эндокринологии и
обмена веществ
им. В.П. Комиссаренко
НАМН Украины»
04114, Киев, Вышгородская, 69
тел.: +38 (067) 502 52 79
e-mail: reznikov39@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Программа индивидуального развития эмбриона и плода определяется в первую очередь геномом зиготы. Однако формирование фенотипических характеристик зрелого организма в значительной мере зависит от исходящих из материнского организма эпигенетических влияний, которым он подвергается в период внутриутробного развития. В особенности это касается функциональных свойств физиологических систем, в том числе нейроэндокринной. А поскольку созревание этих систем происходит асинхронно, то так называемые критические периоды индивидуального развития, когда плод особенно подвержен модулирующим и патогенным факторам внешней и внутренней среды, также не совпадают во времени. Например, если иметь в виду андрогензависимую дифференциацию мозга плода мужского пола, то она у человека приходится на средний триместр беременности, а у грызунов, например, крыс и мышей – на последний триместр и даже первую неделю после рождения [5, 8, 25].

АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ И ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

К этиологическим факторам, которые вызывают в ранней жизни эпигенетические изменения, ведущие к повышенному риску патологии у взрослых, относятся стрессогенные агенты, гипоксия, нарушения гормонального, иммунного и метаболического гомеостаза, голодание, эндокринные дисрапторы, лекарственные средства. Широкую известность приобрела теория Дэвида Баркера [10,

11], который на основании эпидемиологических исследований в середине 80-х годов XX столетия установил связь между пониженной массой тела новорожденных и риском развития ишемической болезни сердца в будущей взрослой жизни. Впоследствии появилось много аналогичных сведений о повышенном риске других видов патологии – сахарного диабета, артериальной гипертензии, ожирения и т. д. Проблеме фетального происхождения болезней взрослых был посвящен одноименный международный конгресс, прошедший в 2003 г. в Брайтоне (Великобритания), на котором было учреждено научное общество с таким же названием (Fetal origin of adult diseases, FOAD).

Эпигенетическая природа ранней внутриутробной детерминации функциональной патологии

Большой массив экспериментальных и клинических наблюдений, накопившихся в последние годы, убеждает в необходимости самого пристального изучения данной проблемы. Отдаленными последствиями ранних воздействий является повышенный риск нарушений психофизиологических функций, психотических, когнитивных расстройств, депрессии, нарушения сексуальной ориентации, бесплодия, реакции гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС) на стресс, инфекционных болезней, а также указанных выше соматических заболеваний [2, 4, 17, 24, 27]. Примечательно, что эпигенетически обусловленная врожденная патология может передаваться будущим поколениям [20, 21,

22]. Более того, эпигенетические изменения могут происходить в зрелых сперматозоидах под влиянием экзогенных гормонов, в частности, синтетических кортикостероидов, даже на преемцпцнннм этапе репродукции [23]. Таким образом, экспериментально доказана возможность передачи эпигенетических изменений как по материнской, так и по отцовской линии.

Молекулярные механизмы эпигенетических модификаций известны современной науке. Главные из них – метилирование ДНК, уменьшающее активность генов, ацетилирование гистонов, повышающее экспрессию генов, а также интерференция с микроРНК¹. Например, доказано, что ожирение у тринадцатилетних детей, матери которых во время беременности подверглись тяжелым психоэмоциональным переживаниям и физическому дискомфорту в результате многодневной снежной бури в Квебеке, коррелирует с гиперметилированием ДНК Т-лимфоцитов [13]. Повышенная предрасположенность к сахарному диабету и ожирению у детей и внуков голландских женщин, переживших ужасный голод зимой 1944 г., оказалась ассоциированной с метилированием гена рецептора инсулина. С этим перекликаются результаты экспериментов, которые показали снижение толерантности к глюкозе у перенесших пренатальный стресс животных [1].

Термин «пренатальный стресс» широко используется в научной литературе, хотя непосредственному стрессогенному воздействию подвергается материнский организм. Экспериментально доказано, что при этом в организме плода возникает нейрoгормональный дисбаланс, характерный для состояния стресса. В частности, в крови повышается уровень кортикостероидов материнского происхождения. В нейрoэндокринных структурах мозга изменяются уровни опиоидов, катехоламинов и других нейромедиаторов.

Таким образом, доказана потенциальная опасность стресса материнского организма для развития плода, в частности, для формирования различных форм поведения, нейрoэндокринной регуляции репродукции, метаболизма, иммунитета и адаптивных реакций.

Начало ретроспективному клиническому анализу связи функциональной патологии с перенесенным пренатальным стрессом положили Г. Дорнер и соавторы [14]. Они установили, что у взрослых сыновей немецких женщин, переживших во время беременности в 1943–1944 гг. бомбардировки Берлина, значительно чаще выявлялись отклонения в сексуальной

ориентации (гомо- и бисексуализм) по сравнению с теми, кто был выношен в сравнительно спокойных условиях. Что касается поведения потомков женского пола, то недавно было показано, что у девочек, перенесших пренатальный стресс, наблюдается маскулинизация игрового поведения [15]. В настоящее время в разных странах выполняются клинические ретроспективные и проспективные исследования, целью которых является изучение эпидемиологии отдаленных негативных последствий пренатального стресса:

- ❖ QF2011 – Queensland Flood Study (наводнение в Австралии 2011 г.) [19];
- ❖ ретроспективный анализ здоровья лиц, рожденных в Европе во время Холокоста [12];
- ❖ проект Ice Storm (Квебек, Канада) [13];
- ❖ Iowa Flood Study (наводнение 2008 г. в штате Айова, США) [18];
- ❖ проект Viva (стресс и депрессия во время беременности);
- ❖ Danish National Register studies (смерть близких родственников непосредственно перед беременностью или во время нее);
- ❖ Study for Future Families (США).

Очевидно, что спустя много лет после рождения ребенка верификация любых воздействий, которым подвергалась беременная женщина, представляет значительные трудности. В равной степени ограничен диапазон возможностей для изучения патогенеза врожденных нейрoэндокринных и других расстройств эпигенетической природы. Поэтому большинство исследований в этой области науки, именуемой функциональной тератологией, проводятся на животных. В данной статье приведены полученные нами и сотрудниками результаты экспериментального изучения механизмов и отдаленных последствий пренатального стресса, а также пренатального применения некоторых лекарственных средств в отношении нейрoэндокринной регуляции репродукции.

Синдром пренатального стресса

Нарушения развития плода могут быть смоделированы стрессогенными агентами на всех стадиях эмбриогенеза и фетогенеза. Моделирование социально-эмоционального стресса у крыс в первом триместре беременности (1–7 дни) путем подсадки беременных самок крыс к небеременным вызывает у потомства задержку полового развития, снижение гормональной активности семенников



Доказана потенциальная опасность стресса материнского организма для развития плода, в частности, для формирования различных форм поведения, нейрoэндокринной регуляции репродукции, метаболизма, иммунитета и адаптивных реакций

¹ МикроРНК (англ. microRNA, miRNA) – малые некодирующие молекулы РНК длиной 18–25 нуклеотидов, принимающие участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов путем РНК-интерференции (прим. ред.).

НАУКОВЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

и яичников, нарушение функции других желез внутренней секреции, остеогенеза, толерантности к углеводам, снижение фертильности и др. [7]. Мы сосредоточились на изучении синдрома пренатального стресса, который у грызунов формируется в третьем семестре беременности и характеризуется в первую очередь нарушением половой дифференциации мозга – полового поведения, нейроэндокринных расстройств, в том числе стресс-реактивности ГАС и т. д. Состояние стресса воспроизводили жесткой иммобилизацией беременных крыс по одному часу в день на протяжении 15–21 дней, т. е. третьего триместра.

По нашим данным, синдром пренатального стресса у самцов в отношении системы репродукции проявляется следующим комплексом симптомов:

- ❶ Задержка полового созревания.
- ❷ Гомо- или бисексуальное поведение (феминизация/демаскулинизация).
- ❸ Половая дисфункция (копулятивное поведение и др.).
- ❹ Микроструктурные корреляты феминизации мозга самцов: уменьшение объема ядер нейронов в преоптико-медиальных и супрахиазматических ядрах гипоталамуса.
- ❺ Биохимические корреляты феминизации мозга самцов: – изменения гипоталамической катехоламинергической и ГАМК(γ-аминомасляная кислота)-ергической регуляции нейроэндокринных функций; – феминизация метаболизма тестостерона в гипоталамусе; – нивелирование половых различий спектра белков в гипоталамусе.
- ❻ Ослабление стимулирующего действия лютропин-рилизинг-гормона на гипофизарную секрецию лютеинизирующего гормона.
- ❼ Ускорение возрастной инволюции сперматогенеза.

У пренатально стрессированных самок обнаружена следующая патология в сфере репродукции:

- ❶ Задержка полового созревания.
- ❷ Нарушение регулярности и фазовой структуры эстральных циклов.
- ❸ Уменьшение фертильного потенциала.

Нетрудно заметить, что нейроэндокринная система плода мужского пола по сравнению с женским значительно более восприимчива к патогенному влиянию материнского стресса.

При изучении патогенеза синдрома пренатального стресса установлено, что ведущую роль играют индуцированные стрессом изменения секреции андрогенов, а гормональными медиаторами эпигенетического программирования являются кортикостероиды, опиоиды, ионы кальция. В частности, это подтверждается нарушением половой дифференциации мозга у нестрессированных самцов, которые в последнюю неделю внутриутробного развития подверглись воздействию β-эндорфина или дексаметазона. Повышение секреции кортикостероидов и опиоидов в крови беременной матери и плода при стрессе приводит к торможению секреции лютеинизирующего гормона в гипофизе плода и, соответственно, к уменьшению секреции тестостерона его половыми железами. Результатом андрогенного дефицита является нарушение половой дифференциации мозга по мужскому типу. С дру-

гой стороны, вследствие усиления секреции адренокортикотропного гормона при стрессе повышается продукция андростендиона в коре надпочечных желез, что способствует частичной маскулинизации мозга девочки.

Ранее нами было установлено, что обязательным участником половой дифференциации мозга по мужскому типу является фермент ароматаза, который конвертирует тестостерон в эстрадиол. Известно, что андрогенные гормоны повышают активность ароматазы в нейроэндокринных структурах гипоталамуса. Также известно, что стимуляция адренергических рецепторов гипоталамуса, реализующая повышение активности ГАС при стрессе, тоже тормозит активность ароматазы стероидов. Поэтому закономерно, что в наших экспериментах на фоне дефицита тестостерона и активации норадренергических механизмов, обусловленных пренатальным стрессом, активность ароматазы в преоптико-переднегипоталамической области мозга самцов снижалась до уровня, свойственного самкам. Это важно подчеркнуть, потому что именно в указанном участке мозга локализован нейроэндокринный центр регуляции мужского полового поведения. Следовательно, уменьшение активности ароматазы может служить предиктором феминизации мозга. Восполнение андрогенного дефицита введением тестостерона пропионата за 30 минут перед стрессированием способно предотвратить эти изменения [26].

Исходя из представлений о патогенетических механизмах и нейрогормональных медиаторах эпигенетического программирования синдрома пренатального стресса, нами был проведен эксперимент на грызунах с целью изучения возможностей его фармакологической профилактики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Беременных крыс линии Вистар стрессировали после предварительного введения лекарственных средств с различными механизмами действия, способных блокировать реализацию патогенных эффектов пренатального стресса.

Животных содержали в одинаковых условиях вивария на стандартном рационе питания со свободным доступом к питьевой воде. Все эксперименты проводились с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986). Состояние стресса у матерей в последнюю неделю беременности (15–21-й дни) воспроизводили ежедневно путем жесткой иммобилизации по 1 часу. За 30 минут до иммобилизации самкам вводили один из исследуемых препаратов: дексаметазон (0,1 мг/кг, внутримышечно), налтрексон, нимодипин (20 мг/кг, перорально), метилдопа (400 мг/кг, перорально), фенибут (100 мг/кг, перорально). Контрольные группы формировали из интактных животных соответствующего возраста.

Экспериментальные исследования проводили на потомках обоего пола в возрасте 10 дней, 3, 6 и 8 месяцев. Изучали активность ароматазы стероидов, содержание и метаболический кругооборот катехоламинов, распределение белков по молекулярной массе в дискретных нейроэндокринных структурах мозга, сроки полового

созревания, мужское и женское половое поведение, фертильность, плодовитость, эстральные циклы и их фазовую структуру и др.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фармакологическая профилактика синдрома пренатального стресса

Все перечисленные препараты в той или иной степени продемонстрировали превентивные эффекты в отношении развития нарушений нейроэндокринной регуляции репродуктивной системы, индуцированных пренатальным стрессом. В данной статье основное внимание уделено результатам опытов с препаратами метилдопа и фенибут.

Пренатальный стресс существенно задерживал половое созревание крыс обоего пола (у женского потомства оно определялось по дате открытия вагинального отверстия после рождения, у самцов – по дате опускания семенников в мошонку). Метилдопа предотвращал эти нарушения у самок, а у самцов препятствовал преждевременной пубертации (табл. 1). Частично задержке пубертации самцов препятствовал и фенибут: опущение семенников у интактных животных (n = 10) происходило в среднем через 38,8 ± 0,29 дней после рождения, у пренатально стрессированных (n = 10) – через 48,0 ± 0,21 дней (p < 0,001), а у стрессированных на фоне фенибута (n = 10) – через 43,5 ± 0,17 дней (p < 0,001 по сравнению с пренатально стрессированными и интактными самцами).

В подтверждение результатов предшествующих исследований пренатальный стресс достоверно снижал активность ароматазы тестостерона в преоптической области гипоталамуса самцов десятидневного возраста, то есть в конце критического периода половой дифференциации мозга. Однако если перед стрессированием беременные животные получали метилдопа или фенибут, то активность фермента сохранялась на нормальном уровне (рис. 1). При этом 5α-редуктазная активность не претерпевала изменений ни в одной из групп.

Приведенным данным соответствовали показатели полового поведения, которые свидетельствовали о демаскулинизации и/или феминизации мозга половозрелого мужского потомства. Тестирование мужского полового поведения проводили дважды, с недельным интервалом, помещая самца на полчаса в клетку с рецептивной самкой в состоянии эструса. Для этого за неделю до опыта у самок удаляли яичники, за два дня до тестирования им вводили эстрадиола бензоат (0,1 мг на животное, внутримышечно), а за 4 часа – прогестерон (0,5 мг на живот-

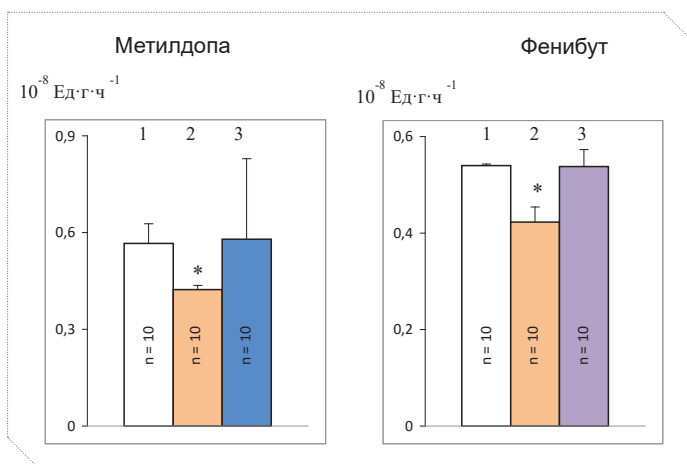


РИСУНОК 1. АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТА АРОМАТАЗЫ В ПРЕОПТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ МОЗГА ДЕСЯТИДНЕВНЫХ САМЦОВ КРЫС*

1 – контрольная группа, 2 – пренатально стрессированные, 3 – пренатально стрессированные на фоне действия метилдопа или фенибута

* p < 0,05 в сравнении с контролем (статистическая обработка по таблице вероятности событий)

ное, внутримышечно). Для тестирования женского полового поведения самцов, которое определяется степенью чувствительности нейроэндокринных структур мозга к женским половым гормонам, их кастрировали за неделю до эксперимента и вводили эстрадиола бензоат и прогестерон по указанной схеме. Затем подопытного самца подсаживали на 10 минут к имеющему сексуальный опыт нормальному самцу и регистрировали количество лордозных поз (т. е. проявления женского полового поведения), характерных для нормальных самок при приближении самца. Для количественной оценки выраженности женского полового поведения использовали лордозный индекс, который рассчитывали как стократное отношение количества лордозов к количеству приближений нормального самца.

У всех без исключения самцов пренатальный стресс вызывал лордозные реакции при контакте с нормальными самцами. Метилдопа и фенибут снижали количество лордозов на 28–31%, то есть несколько ослабляли эти проявления женского полового поведения. В то же время эти препараты, в особенности фенибут, оказались достаточно эффективными средствами предотвращения некоторых нарушений мужского полового поведения самцов.

И при первом, и при втором тестировании мужского полового поведения в период приобретения сексуального опыта у пренатально стрессированных самцов наблюда-

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ МЕТИЛДОПА НА СРОКИ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС (M ± m)

Группа животных	Самцы (день опускания семенников в мошонку)	Самки (день открытия вагинального отверстия)
Контрольная	40,0 ± 0,30 (n = 10)	44,5 ± 0,79 (n = 13)
Пренатальный стресс P _{1,2}	46,8 ± 0,25 (n = 10) < 0,001	50,6 ± 0,37 (n = 10) < 0,001
Пренатальный стресс + метилдопа P _{1,3} P _{2,3}	31,0 ± 0,22 (n = 10) < 0,001 < 0,001	43,6 ± 0,72 (n = 19) > 0,5 < 0,001

НАУКОВЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

лось удлинение латентных периодов первой садки, первой интормиссии, удлинение постэякуляторного рефрактерного периода, уменьшалось количество интормиссий.

Ниже приведены количественные характеристики мужского копулятивного поведения самцов, пренатально стрессированных на фоне действия фенибута (табл. 2) или метилдопа (табл. 3). Они свидетельствуют о превентивном действии фенибута по всем изученным показателям, и метилдопа – в отношении большинства из них.

У 4 из 10 пренатально стрессированных самок отмечена нерегулярность эстральных циклов, тогда как применение метилдопа уменьшало их относительное количество вдвое – до 4 из 19 животных.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют об участии норадренергической и ГАМК-ергической систем мозга в программировании индуцированных пренатальным стрессом функциональных нейроэндокринных расстройств репродуктивной системы потомства. Кроме того, они указывают на возможность предупреждения этих эпигенетических нарушений путем фармакологического ограничения реакций стресса торможением стресс-реализующих или активацией стресс-лимитирующих механизмов центральной нервной системы.

Нарушения нейроэндокринных функций под влиянием пренатального применения гормонов и нейротропных лекарственных средств

Проблема безопасности для плода лекарственных средств, применяемых во время беременности, не сходит со страниц медицинских изданий [3, 6, 9]. Общепринято, что безопасность лекарства для матери и плода должна превалировать над его эффективностью, за исключением приме-

нения по жизненным показаниям. Как отмечалось выше, сложность обнаружения функциональных нарушений у потомства состоит в том, что они проявляются, как правило, во взрослой жизни, когда трудно верифицировать, какие именно препараты применялись во время беременности для ее сохранения или лечения экстрагенитальной патологии. Поэтому столь большое значение имеют эксперименты на животных, которые проводятся в контролируемых условиях и дают ответы в течение нескольких месяцев, а не лет. Исследования такого рода позволяют изучить механизмы развития патологии, в том числе состояние нейромедиаторных, рецепторных систем, микроструктурные изменения нейроэндокринных клеток мозга и т. д.

Синтетические глюкокортикоиды назначают беременным женщинам при бронхиальной астме, при угрозе преждевременных родов – для ускорения созревания легких плода и профилактики дистресс-синдрома, а также при врожденной гиперплазии коры надпочечных желез. В наших экспериментах введение дексаметазона (0,1 мг/кг, внутримышечно) в последнюю неделю беременности индуцировало у взрослых потомков мужского пола гомосексуальные аномалии и другие нарушения полового поведения.

Согласно рекомендациям Управления по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами (Food and Drug Administration, FDA) США, блокаторы кальциевых каналов в отношении возможности применения при беременности относят к категории C, то есть их применение возможно, когда потенциальная польза превышает риск. Хотя нимодипин противопоказан при беременности, мы использовали его способность блокировать мембранные кальциевые каналы медленного типа для выяснения

ТАБЛИЦА 2. ПАРАМЕТРЫ МУЖСКОГО КОПУЛЯТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ТРЕХМЕСЯЧНЫХ САМЦОВ КРЫС ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ЭКСПОЗИЦИИ ФЕНИБУТА И СТРЕССА. ВТОРОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ($M \pm m$, $n = 5$ В КАЖДОЙ ГРУППЕ)

Параметры	Интактные (контроль)	Пренатальный стресс	Пренатальный стресс на фоне действия фенибута
Латентный период (секунды): первой садки	4,0 ± 1,1	12,2 ± 2,5*	4,0 ± 0,6**
первой интормиссии	4,8 ± 1,2	13,0 ± 2,5*	5,0 ± 0,6**
Количество: садок без интормиссий	11,0 ± 3,2	12,2 ± 1,4	7,0 ± 0,6**
интормиссий	43,0 ± 5,9	29,4 ± 1,6*	34,2 ± 3,2

* $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными;

** $p < 0,05$ в сравнении с пренатально стрессированными животными

ТАБЛИЦА 3. ПАРАМЕТРЫ МУЖСКОГО КОПУЛЯТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ТРЕХМЕСЯЧНЫХ САМЦОВ КРЫС ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ЭКСПОЗИЦИИ МЕТИЛДОПА И СТРЕССА. ВТОРОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ($M \pm m$, $n = 5$ В КАЖДОЙ ГРУППЕ)

Параметры	Интактные (контроль)	Пренатальный стресс	Пренатальный стресс на фоне действия метилдопа
Латентный период (секунды): первой садки	11,2 ± 2,4	22,2 ± 1,6*	19,2 ± 1,9**
первой интормиссии	15,2 ± 2,6	31,7 ± 0,6*	20,4 ± 2,0*
Количество: садок без интормиссий	13,2 ± 1,9	13,5 ± 0,9	6,2 ± 1,2**
интормиссий	22,6 ± 1,3	18,5 ± 2,3	23,2 ± 1,3

* $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными;

** $p < 0,05$ в сравнении с пренатально стрессированными животными

роли кальциевой ионной сигнализации в программировании секс-специфических особенностей нейроэндокринной регуляции репродуктивных функций. Оказалось, что у женского потомства он (20 мг/кг, перорально) надолго задерживает половое созревание, у 20% крыс нарушает фазовую структуру эстральных циклов, и у всех животных вызывает гомосексуальные признаки мужского полового поведения, а именно садки на нормальных рецептивных самок. Определенную роль в маскулинизации поведения самок могли играть индуцированные нимодипином изменения метаболизма тестостерона в медиобазальном гипоталамусе. Гомосексуальное поведение наблюдалось и у 80% самцов в виде садок на нормального самца, а у 60% – в виде лордозных реакций при контакте с нормальными самцами (рис. 2), что характерно для нормальных самок. Описанные изменения свидетельствуют об извращении ответа нейроэндокринных центров полового поведения на активирующее или тормозящее действие половых гормонов.

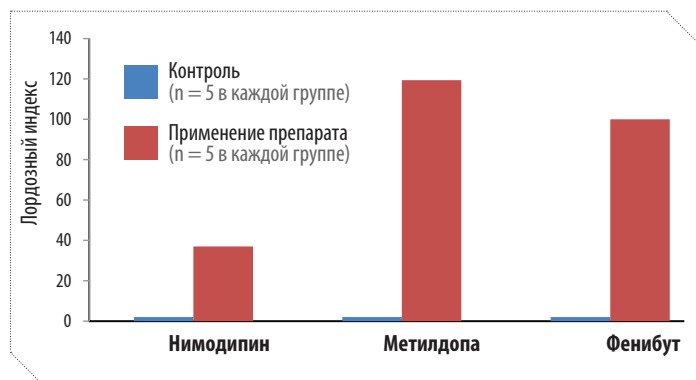


РИСУНОК 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕСТИРОВАНИЯ ЖЕНСКОГО ПОЛОВОГО ПОВЕДЕНИЯ ВЗРОСЛЫХ САМЦОВ КРЫС, РОДИВШИХСЯ ОТ МАТЕРЕЙ, КОТОРЫЕ ПОЛУЧАЛИ НИМОДИПИН, МЕТИЛДОПА ИЛИ ФЕНИБУТ В ПОСЛЕДНЕМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ*

* $p < 0,05$ в сравнении с контролем

Мы изучили последствия применения метилдопа и фенибута в последнюю неделю беременности крыс в отношении репродуктивного здоровья потомства. Метилдопа не нарушал темпа полового созревания самцов и самок ($n = 10$ в каждой группе), в то же время фенибут задерживал его в среднем на 5,0 дней у самцов ($n = 10$, контроль – 38,8 дней) и на 4,5 дней у самок ($n = 10$, контроль – 43,8 дней).

Как известно, из всех разрешенных к применению во время беременности антигипертензивных средств метил-

допа относится к одним из наиболее безопасных для эмбриона и плода, поскольку, несмотря на наличие данных о негативном влиянии на плод в исследованиях на животных, клинических подтверждений этого факта нет [16]. Вызывают большую настороженность результаты наших экспериментов, которые были получены при изучении потенциальной опасности пренатального воздействия метилдопа в отношении полового поведения потомства. У самцов при первом тестировании мужского полового поведения по отношению к рецептивным самкам в 2–2,5 раза увеличивались латентные периоды первой садки и первой интромиссии в сравнении с контрольными параметрами (табл. 4). В среднем в 1,5 раза возрастало количество интромиссий (рис. 3). Эти нарушения нивелировались при втором тестировании, за исключением количества садок без интромиссий, которое достоверно снижалось в среднем в 2,6 раза.

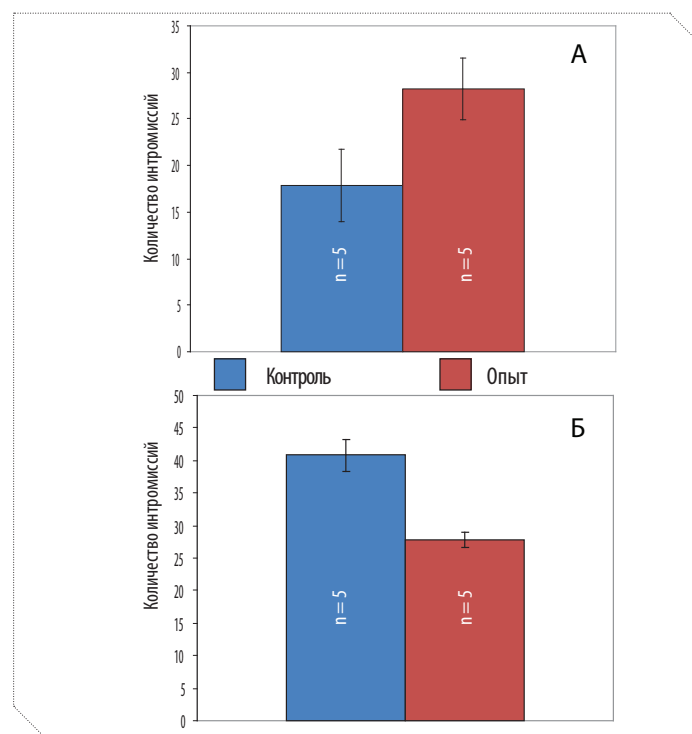


РИСУНОК 3. ПОКАЗАТЕЛИ КОПУЛЯТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ВЗРОСЛЫХ САМЦОВ КРЫС, РОДИВШИХСЯ ОТ МАТЕРЕЙ, КОТОРЫЕ ПОЛУЧАЛИ МЕТИЛДОПА (А) ИЛИ ФЕНИБУТ (Б) В ПОСЛЕДНЕМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ*

* $p < 0,05$ в сравнении с контролем

ТАБЛИЦА 4. ПАРАМЕТРЫ МУЖСКОГО КОПУЛЯТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ТРЕХМЕСЯЧНЫХ САМЦОВ КРЫС ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ЭКСПОЗИЦИИ МЕТИЛДОПА. ПЕРВОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ($M \pm m$, $n = 5$ В КАЖДОЙ ГРУППЕ)

Параметры	Контрольная группа	Метилдопа
Латентный период (секунды):		
первой садки	37,2 ± 4,9	91,0 ± 18,7*
первой интромиссии	40,4 ± 5,3	93,0 ± 17,6*
Количество:		
садок без интромиссий	5,8 ± 0,9	9,0 ± 1,4
интромиссий	17,8 ± 3,9	28,2 ± 3,3*

* $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными

НАУКОВЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Особенно впечатляют результаты тестирования женского полового поведения самцов. У всех без исключения подопытных самцов, испытавших пренатальное влияние метилдопа или фенибута, наблюдались лордозные реакции при приближении нормального самца. С другой стороны, одним из эффектов метилдопа были садки на нормального активного самца. Таким образом, они проявляли как активное, так и пассивное гомосексуальное поведение, тогда как в группе фенибута наблюдалось только женское, то есть пассивное гомосексуальное поведение.

Нарушения полового поведения в результате пренатального воздействия метилдопа и фенибута затрагивают и самок. Хотя параметры лордозных реакций при контакте с активным самцом оставались нормальными, при контакте с рецептивной нормальной самкой все подопытные самки совершали садки на них с попытками копуляции, что характеризуется как активное гомосексуальное поведение (экспериментальный аналог лесбийского поведения).

Под влиянием пренатального воздействия фенибута у взрослых самцов уменьшалось на треть количество интродукций (рис. 3).

ВЫВОДЫ

Совокупность приведенных в данной статье данных позволяет сформулировать концепцию дуализма отдаленных эффектов пренатального применения нейротропных, гормональных и антигормональных лекарственных средств. Она заключается в том, что, с одной стороны, некоторые из них способны блокировать негативное влияние стресса материнского организма на нейроэндокринную систему у потомства, а с другой способны нарушать программирование нейроэндокринных функций в плодном периоде развития (рис. 4).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Абрамов, А.В. Состояние толерантности к глюкозе у самцов, перенесших хронический пренатальный стресс / А.В. Абрамов, Ю.М. Колесник, М.А. Тихоновская // Запорожский медицинский журнал. – 2004. – № 6. – С. 38–41. Abramov, A.V. Kolesnik, Y.M. Tihonovskaya, M.A. "Glucose tolerance in males exposed to chronic prenatal stress." Zaporizhzhia Medical Journal 6 (2004): 38–41.
- Барабой, В.А., Резников, О.Г. Физиологія, біохімія і психологія стресу // К: Інтерсервіс. – 2013. – 314 с. Baraboi, V.A., Reznikov, O.G. Physiology, biochemistry and psychology of stress. Kyiv. Interservice (2013): 314 p.
- Медведь, В. Медикаментозное лечение во время беременности: особенности, опасности, ограничения / В. Медведь // Вісник фармакології та фармації. – 2008. – № 9. – С. 15–21. Medved, V. "Medicines treatment during pregnancy: peculiarities, dangers, limitations." Journal of Pharmacology and Pharmacy 9 (2008): 15–21.
- Ордян, Н.Е. Влияние пренатального стресса на активность гипофизарно-овариальной системы у самок крыс / Н.Е. Ордян, Ю.О. Федотова, С.Г. Пивина // Бюлл. экск. биол. мед. – 2013. – Т. 155, № 4. – С. 433–435. Ordian, N.E., Fedotova, Y.O., Pivina, S.G. "Effects of prenatal stress on the activity of the pituitary-ovarian system in female rats." Bull Exp Biol Med 155 (2013): 433–5.

- Резников, А.Г., Пишак, В.П., Носенко, Н.Д., Ткачук, С.С., Мыслицкий, В.Ф. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология // Черновцы: Изд-во «Медакадемия». – 2004. – 320 с. Reznikov, A.G., Pyshak, V.P., Nosenko, N.D., Tkachuk, S.S., Myslytskiy, V.F. Prenatal stress and neuroendocrine pathology. Chernivtsi. Medakademia Publishers (2004): 320 p.
- Резников, А.Г. Экспериментальное изучение отдаленных последствий перинатального применения лекарственных средств для здоровья потомков / А.Г. Резников, Н.Д. Носенко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2013. – Т. XII, № 4. – С. 3–11. Reznikov, A.G. Nosenko, N.D. "Animal study of long-term consequences of perinatal drugs administration with regard to the offspring health." Clin Exp Pathol 12 (2013): 3–11.
- Сергієнко, Л.Ю. Ранній онтогенез – період «програмування» ендокринних та гормонально-залежних патологій / Л.Ю. Сергієнко // Фундаментальна та клінічна ендокринологія: проблеми, здобутки, перспективи (Восьмі Данилевські читання). – Харків. – 2009. – С. 11–16. Serhiienko, L.Y. Early ontogenesis as a period of "programming" of endocrine and hormone-dependent pathology. Basic and Clinical Endocrinology: Problems, Achievements, Perspective (The Eight Danilevsky Reading). Kharkiv (2009): 11–16.

- Ткачук, О.В. Сучасні погляди на формування статевого диморфізму головного мозку та механізми його порушення / О.В. Ткачук, С.С. Ткачук, В.Ф. Мислицький // Клінічна та експериментальна патологія. – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 248–253. Tkachuk, O.V., Tkachuk, S.S., Myslytskiy, V.F. "Up-to-date views to brain sexual dimorphism formation and mechanisms of its abnormality." Clinical and Experimental Pathology 14 (2015): 248–53.
- Ципкун, А.Г. Репродуктивна безпечність та фетальний ризик лікарських засобів / А.Г. Ципкун // Репродуктивна ендокринологія. – 2014. – № 5. – С. 15–20. Tsipkun, A.H. "Reproductive safety and fetal risk of drugs." Reproductive Endocrinology 5 (2014): 15–20.
- Barker, D.J. "The origins of the developmental origins theory." J Intern Med 261 (2007): 412–7.
- Barker, D.J., Osmond, C. "Infant mortality, childhood nutrition and ischemic heart disease in England and Wales." Lancet 1 (1986): 1077–81.
- Bercovich, E., Keinan-Boker, L., Shasha, S.M. "Long-term health effects in adults born during the Holocaust." Isr Med Assoc J 16 (2014): 203–7.
- Cao-Lei, L., Dancause, K.N., Elgbeili, G., et al. "DNA methylation mediates the impact of exposure to prenatal maternal stress on BMI and central adiposity in children at age 13.5 years: Project Ice Storm." Epigenetics 10 (2015): 749–61.
- Dorner, G., Geier, T., Ahrens, L. "Prenatal stress as possible aetiological factor of homosexuality in human males." Endocrinologie 75 (1980): 365–8.

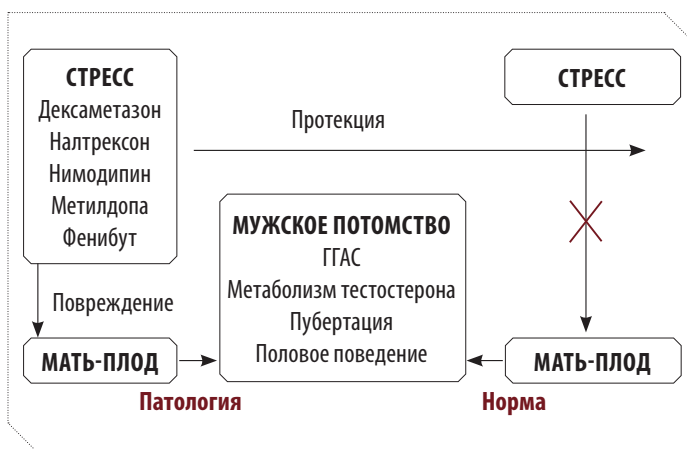


РИСУНОК 4. ДУАЛИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА РАЗВИТИЕ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ ВНУТРИУТРОБНОГО ПЛОДА МУЖСКОГО ПОЛА

Пренатальный стресс в плодном периоде развития «программирует» функциональные нарушения в сфере нейроэндокринной регуляции систем репродукции, ГГАС и поведения. Они могут быть предотвращены применением лекарственных средств, тормозящих активацию стресс-реализующих механизмов центральной нервной системы (например, ингибиторами синтеза катехоламинов) или активирующих стресс-лимитирующие механизмы (например, агонистами ГАМК-рецепторов). В отсутствие сильных стрессорных раздражителей положительные эффекты этих лекарственных средств, применяемых во время беременности, могут меняться на отрицательные, вызывая у потомства крыс нарушения полового созревания, репродуктивных функций и стресс-реактивности ГГАС.

15. Barrett, E.S., Redmon, J.B., Wang, C., et al. "Exposure to prenatal life events stress is associated with masculinized play behavior in girls." *Neurotoxicology* 41 (2014): 20–7.
16. Food and Drug Administration (USA) information on SafeFetus.com, [http://www.safefetus.com/].
17. Harris, A., Seckl, J. "Glucocorticoids, prenatal stress and programming of the disease." *Horm Behav* 59 (2011): 279–89.
18. Kelsey, N.D., David, P.L., Kimberly, J.H., et al. "Prenatal stress due to a natural disaster predicts adiposity in childhood: The Iowa Flood Study." *J Obesity* (2015): 10.
19. King, S., Kildea, S., Austin, M.P., et al. "QF2011: a protocol to study the effects of the Queensland flood on pregnant women, their pregnancies, and their children's early development." *BMC Pregnancy Childbirth* 6 (2015): 109.
20. Messer, L.C., Boone-Heinonen, J., Moonwane, L., et al. "Developmental programming: priming disease susceptibility for subsequent generations." *Curr Epidemiol Rep* 2 (2015): 37–51.
21. Moisiadis, V.G., Matthews, S.G. "Glucocorticoids and fetal programming. Part 1: Outcomes." *Nat Rev Endocrinol* 10 (2014): 391–402.
22. Moisiadis, V.G., Matthews, S.G. "Glucocorticoids and fetal programming. Part 2: Mechanisms." *Nat Rev Endocrinol* 10 (2014): 403–11.
23. Petropoulos, S., Matthews, S.G., Szyf, M. "Adult Glucocorticoid Exposure Leads to Transcriptional and DNA Methylation Changes in Nuclear Steroid Receptors in the Hippocampus and Kidney of Mouse Male Offspring." *Biology of Reproduction* 90 (2014): 43.
24. Phillips, D.I., Jones, A. "Fetal programming of autonomic and HPA function: do people who were small babies have enhanced stress responses." *J Physiol* 572 (2006): 45–50.
25. Reznikov, A.G. Hormone-neurotransmitter imprinting in the neuroendocrine control of reproduction. New York. Harwood Academic Publishers (1994): 90 p.
26. Reznikov, A.G., Tarasenko, L.V. "Hormonal protection of gender-related peculiarities of testosterone metabolism in the brain of prenatally stressed rats." *Neuroendocr Ltts* 28 (2007): 671–4.
27. Vaiserman, A.M. "Epigenetic programming by early-life stress: Evidence from human populations." *Dev Dyn* 244 (2015): 254–265.

ПРЕНАТАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ ПАТОЛОГИИ В АСПЕКТЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

А.Г. Резников, д. мед. н., профессор, академик НАМНУ, член-корр. НАНУ, зав. отделом эндокринологии репродукции и адаптации ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комисаренко НАМН Украины»

Термин «пренатальный стресс» широко используется в научной литературе, хотя непосредственному стрессогенному воздействию подвергается материнский организм. Экспериментально доказано, что при этом в организме плода возникает нейрогормональный дисбаланс, характерный для состояния стресса. В частности, в крови повышается уровень кортикостероидов материнского происхождения. В нейроэндокринных структурах мозга изменяются уровни опиоидов, катехоламинов и других нейромедиаторов. Установлена потенциальная опасность стресса материнского организма для развития плода, в частности, для формирования различных форм поведения, нейроэндокринной регуляции репродукции, метаболизма, иммунитета и адаптивных реакций.

В статье суммированы результаты экспериментальных исследований автора и сотрудников по проблеме отдаленных последствий пренатального стресса в отношении нейроэндокринной регуляции полового созревания и полового поведения.

В ходе исследования беременных крыс стрессировали после предварительного введения лекарственных средств с различными механизмами действия, способных блокировать реализацию патогенных эффектов пренатального стресса. Состояние стресса у матерей в последнюю неделю беременности воспроизводили ежедневно путем жесткой иммобилизации по 1 часу. За 30 минут до иммобилизации самкам вводили один из исследуемых препаратов: дексаметазон, налтрексон, нимодипин, метилдопа, фенибут. Контрольные группы формировали из интактных животных соответствующего возраста.

Экспериментальные исследования проводили на потомках обоего пола. Изучали активность ароматазы стероидов, содержание и метаболизм катехоламинов, распределение белков в нейроэндокринных структурах мозга, сроки полового созревания, мужское и женское половое поведение, фертильность, плодовитость, эстральные циклы и их фазовую структуру и др.

В итоге показана возможность фармакологической профилактики нейроэндокринных нарушений и потомства, рожденного от перенесших стресс во время беременности матерей, путем блокады кальциевых каналов нимодипином, ограничения катехоламинергической активации нейроэндокринных механизмов стресса препаратом метилдопа или стимуляцией ГАМК-ергических рецепторов фенибутом. С другой стороны, применение метилдопа и фенибута у нестрессированных беременных животных вызывает у потомства нарушения полового созревания и полового поведения.

Предложена концепция дуализма действия лекарственных средств на развитие нейроэндокринной системы плода.

Ключевые слова: беременность, пренатальный стресс, нимодипин, метилдопа, фенибут, репродукция, адаптация, крыса.

ПРЕНАТАЛЬНІ ФАКТОРИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ НЕЙРОЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ В АСПЕКТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

О.Г. Резников, д. мед. н., професор, академік НАМНУ, член-корр. НАНУ, зав. відділом ендокринології репродукції та адаптації ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Термін «пренатальний стрес» широко використовується в науковій літературі, хоча безпосереднього стрессогенного впливу зазнає материнський організм. Експериментально доведено, що при цьому в організмі плода виникає нейрогормональний дисбаланс, характерний для стану стресу. Зокрема, в крові підвищується рівень кортикостероїдів материнського походження. У нейроендокринних структурах мозку змінюються рівні опіоїдів, катехоламінів та інших нейромедіаторів. Встановлена потенційна небезпека стресу материнського організму для розвитку плода, зокрема, для формування різних форм поведінки, нейроендокринної регуляції репродукції, метаболізму, імунітету і адаптивних реакцій.

У статті підсумовані результати експериментальних досліджень автора і співробітників з проблеми віддалених наслідків пренатального стресу щодо нейроендокринної регуляції статевого дозрівання і статевої поведінки.

Під час дослідження вагітних шурів піддавали стресу після попереднього введення лікарських засобів із різними механізмами дії, здатних блокувати реалізацію патогенних ефектів пренатального стресу. Стан стресу у матерів в останній тиждень вагітності відтворювали щодня шляхом жорсткої іммобілізації по 1 годині. За 30 хвилин до іммобілізації самкам вводили один із досліджуваних препаратів: дексаметазон, налтрексон, нимодипін, метилдопа, фенібут. Контрольні групи формували з інтактних тварин відповідного віку.

Експериментальні дослідження проводили на нащадках обох статей. Вивчали активність ароматази стероїдів, вміст і метаболізм катехоламінів, розподіл білків у нейроендокринних структурах мозку, терміни статевого дозрівання, чоловічу і жіночу статево поведінку, фертильність, плодовитість, естральні цикли й їхню фазову структуру та ін.

В результаті показано можливість фармакологічної профілактики нейроендокринних порушень у нащадків, народжених від матерів, які перенесли стрес під час вагітності, шляхом блокади кальцієвих каналів нимодипіном, обмеження катехоламініергічної активації нейроендокринних механізмів стресу препаратом метилдопа або стимуляцією ГАМК-ергічних рецепторів фенібуту. З іншого боку, застосування метилдопа і фенібуту в нестресованих вагітних тварин викликає в потомства порушення статевого дозрівання і статевої поведінки.

Запропоновано концепцію дуалізму дії лікарських засобів на розвиток нейроендокринної системи плода.

Ключові слова: вагітність, пренатальний стрес, нимодипін, метилдопа, фенібут, репродукція, адаптація, шур.

ANIMAL RESEARCH DATA ON PRENATAL FACTORS OF FUNCTIONAL NEUROENDOCRINE DISORDERS

O.G. Reznikov, MD, professor, academican of the NAMS of Ukraine, corresponding member of the NAS of Ukraine, Head of the Endocrinology of Reproduction and Adaptation Department, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine

The term "prenatal stress" is widely used in the scientific literature, although the immediate effects of stressor exposed maternal organism. It is experimentally proved that in this case in fetus body neurohormonal imbalance occurs that typical for the stress state. In particular, in blood increased corticosteroid level of maternal origin. Opioids, catecholamines, and other neurotransmitters levels change in neuroendocrine brain structures. There is potential danger of the mother's body stress for the fetus development, particularly for the formation of various forms of behavior, neuroendocrine reproduction regulation, metabolism, immunity and adaptive responses.

The results of experimental research by author and co-workers regarding long-term effects of prenatal stress as far as neuroendocrine control of puberty and sex behavior concerned are summarized in the article. In the study of pregnant rats were stressed after prior administration of drugs with different mechanisms of action, capable of blocking the implementation of the pathogenic effects of prenatal stress. The stress in rats was reproduced by daily immobilization for 1 hour in the last week of pregnancy. 30 minutes before immobilization the rat was administered one of the study drugs: dexamethasone, naltrexone, nimodipine, methylodopa, phenibut. The control group was formed from the same age intact animals.

Experimental studies were carried out on the offspring of both sexes. Activity of aromatase steroids, catecholamines level and metabolism, distribution of proteins in neuroendocrine brain structures, timing of puberty, male and female sexual behavior, fertility, fecundity, estrous cycle and their phase structure were studied.

It is demonstrated the potential of pharmacological prevention of the neuroendocrine disorders in the offspring that have been delivered by mothers exposed to stress during pregnancy using calcium channel blocker, nimodipine, or by diminishing catecholaminergic activation of neuroendocrine mechanisms of stress with methylodopa, or by stimulation of GABA-ergic receptor with phenibut. Contrary, methylodopa or phenibut administration in non-stressed pregnant animals causes disorders of puberty and sex behavior.

There is proposed the concept of dualistic drug effects on the fetus neuroendocrine function development.

Keywords: pregnancy, prenatal stress, nimodipine, methylodopa, phenibut, reproduction, adaptation, rat.