Дата публикации: 01.12.2024
DOI: 10.24412/2588-0500-2024_08_04_20
УДК 612.82; 159.9

Publication date: 01.12.2024
DOI: 10.24412/2588-0500-2024_08_04_20
UDC 612.82; 159.9

ОСОБЕННОСТИ СОЗРЕВАНИЯ МОТОРНОЙ СФЕРЫ У КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ СТРЕССУ РАННЕГО ПЕРИОДА ЖИЗНИ

Д.С. Громова[1], Н.Р. Попова[2], А.И. Будаев[1], С.И. Павленко[1,3]

[1]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара, Россия

[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук, г. Пущино, Московская область, Россия

[3]Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», г. Самара, Россия

Аннотация. Ранний период жизни является критическим периодом онтогенеза и характеризуется формированием морфо-функциональных особенностей нервной системы, которые в дальнейшем будут определять протекание психоэмоциональных и рефлекторных функций организма. Цель работы – изучить становление двигательных навыков у животных, подвергавшихся стрессу раннего периода жизни. Исследование проводилось на новорожденных крысах обоего пола. Общее количество животных, участвовавших в исследовании – 15 особей. Оценивалась динамика созревания моторных навыков с использованием стандартных методов изучения развития потомства в постнатальном периоде жизни, описанных в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных препаратов». Установлено, что у животных, подвергавшихся стрессу раннего периода жизни, наблюдалось изменение сроков формирования вестибулярной функции и координации движений в сравнении с контрольной группой. Авторы полагают, что объяснить такие эффекты можно повышением уровня глюкокортикоидов, спровоцированное стрессом раннего периода.

Ключевые слова: моторные функции, двигательная активность, стресс раннего периода.

MOTOR SPHERE MATURATION IN RATS EXPOSED TO EARLY-LIFE STRESS

D.S. Gromova[1,2], N.R. Popova[2], A.I. Budaev[1], S.I. Pavlenko[1,3]

[1]Samara State Medical University, Samara, Russia

[2]Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of RAS, Pushchino, Russia

[3]Samara National Research University, Samara, Russia

Abstract. The early period of life is a crucial period of ontogenesis, which characterized by the formation of morphofunctional characteristics of the nervous system, which will subsequently determine the course of psycho-emotional and reflex functions of the body. The objective of the work is to study the development of motor skills in animals exposed to early-life stress. The study was conducted on newborn rats of both sexes. The total number of animals participating in the study was 15. The dynamics of the motor skill maturation were assessed with standard methods for studying the development of offspring in the postnatal period of life, described in the “Guide to Preclinical Studies of Drugs.” It was found that in animals exposed to early-life stress, there was a change in the timing of the formation of vestibular function and coordination of movements in comparison with the control group. The authors believe that such effects may be explained by an increase in glucocorticoid levels provoked by early-life stress.

Keywords: motor functions, motor activity, early-life stress.

Введение. Известно, что уровень общей активности у человека и животных обеспечивается метаболизмом определенных медиаторов и гормонов. Сбои в работе нейромедиаторных систем проявляются в виде изменений в поведении, эмоциональных реакций, снижения настроения.

В последние годы у многих детей наблюдается рост нервно-психических заболеваний, причины которых в 70-80% случаев кроются в патологии раннего неонатального периода жизни [1]. Наиболее высока частота неблагоприятных последствий у детей, перенесших воздействие стрессорных факторов. Известно, что у таких детей значительно затруднены процессы постнатальной адаптации и становления центральной нервной системы (ЦНС), а также высока частота минимальных мозговых дисфункций и психомоторных расстройств.

В связи с этим важными также становятся поиск и использование различных животных в качестве модельных организмов для проведения исследований в какой-либо области. Одной из наиболее распространенных моделей для изучения особенностей функционирования нейромедиаторных систем в норме и при воздействии повреждающих факторов являются грызуны.

Цель настоящего исследования – изучить формирование двигательных навыков у животных, подвергавшихся стрессу в раннем постнатальном онтогенезе.

Методы и организация исследования. Работа проводилось на нелинейных новорожденных крысах обоего пола. Общее количество животных, участвовавших в эксперименте – 15 особей. На протяжении всего эксперимента животные содержались в стандартных условиях вивария, при неограниченном доступе к воде и пище. Все исследования выполнялись в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях; приложением к приказу Минздрава СССР № 755 от 12 августа 1977 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» и Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

Для получения крысят с датированным сроком рождения с каждым самцом ссаживались по три самки. Беременные крысы за 3-4 дня до родов были рассажены в индивидуальные клетки. День родов считался первыми сутками жизни. В каждую группу брался помет от двух самок, спаренных с разными самцами.

Были сформированы две группы животных: контрольная и экспериментальная. Контрольная группа (n=6; количество детенышей в двух пометах: 4 и 2) на протяжении всего исследования оставалась интактной, не подвергалась действию никаких стрессоров. Экспериментальная группа (n=9; количество детенышей в двух пометах: 4 и 5) подвергалась стрессу раннего периода жизни, для моделирования которого использовался стандартный протокол: животные отлучались от матери ежедневно на 3 ч в одно и то же время (с 14:00 до 17:00) с 1-го по 14-й день жизни.

На протяжении всего периода эксперимента осуществлялось наблюдение за физическим развитием животных, отмечались такие параметры, как отлипание ушной раковины, появление первичного волосяного покрова, открытие глаз.

Со 2-го дня жизни животные всех групп тестировались с использованием методики «Переворачивание на плоскости». Крысят клали на спину на плоской поверхности, затем их отпускали и измеряли время, необходимое для возвращения в нормальное положение. Рефлекс считался сформированным, если крысята возвращались на все четыре лапы. Тестирование проводилось один раз в день не более чем по 30 с.

С 5-х суток жизни оценивалось появление отрицательного геотаксиса. Крысята помещались на наклонную плоскость головой вниз. Рефлекс считался сформированным, если они поворачивались на 180°. Тестирование проводилось 1 раз в день по 1 мин.

С 6-го дня постнатального онтогенеза применялась методика «Избегание обрыва». Крысят клали на возвышающуюся над клеткой платформу таким образом, чтобы передние лапы касались ее края. Рефлекс считался сформированным, если в течение 10 с крысенок отползал от края площадки. Исследования проводились 1 раз в день.

Изучение скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов осуществлялось ежедневно до тех пор, пока у всех животных в группе не происходило полное созревание рефлекса. Таким образом, день окончания наблюдения и считался днем полного формирования двигательного навыка для каждой конкретной группы. Все методики и сроки проведения тестов воспроизводились по рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [2].

На 10-й день жизни всех животные тестировали по методике «Выход из круга» для оценки степени сформированности двигательных навыков. Крысенка помещали в центр круга диаметром 15 см, а затем отмечали время, за которое животное всеми четырьмя лапами пересечет его границу.

На 26-й день жизни все крысята тестировались в черно-белой камере, при этом оценивался уровень двигательной активности по количеству вертикальных стоек и переходов между отсеками тестовой площадки.

Все тестирования животных осуществлялись в утренние часы: с 9:00 до 12:00. Введение препаратов и отлучение от матери осуществлялись не менее чем через 2 ч после исследования двигательных навыков.

Полученные данные обрабатывались с помощью статистической программы SigmaPlot12.0. (Jandel Scientific, USA). Предварительно устанавливался закон распределения изучаемых параметров двигательных навыков с помощью критерия Шапиро-Уилка (Normality Test: Shapiro-Wilk). Для оценки достоверности различий показателей между контрольной и экспериментальными группами применялся Т-критерий Стьюдента. В качестве описательных статистик приведены средние арифметические ± стандартные ошибки среднего (M±m). Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе наблюдения у детенышей обеих групп не было выявлено каких-либо существенных изменений в физическом развитии.

Наиболее быстрые темпы формирования вестибулярной функции и координации движений в тестах «Переворачивание на плоскости», «Избегание обрыва» и «Отрицательный геотаксис» наблюдались у животных, подвергавшихся стрессу раннего периода жизни (табл. 1).

При тестировании по методике «Выход из круга» было установлено, что на выход из круга животным экспериментальной группы требовалось больше времени, чем животным контрольной группы (табл. 2).

На 26-е сутки в тесте «Черно-белая камера» также отмечено достоверное снижение двигательной активности у животных экспериментальной группы (табл. 3).

Таблица 1

Сравнение сроков созревания сенсорно-двигательных рефлексов у крысят

Группа	Диапазон сроков становления рефлекса (первые день наблюдения реакции хотя бы у одного животного из группы – у всех животных группы), сут		
	Переворачивание на плоскости	Отрицательный геотаксис	Избегание обрыва
Контрольная	2-7	5-16	5-15
Экспериментальная	1-2	6-11	5-11

Таблица 2

Двигательная активность крысят на 10-е сутки жизни (тест «Выход из круга»)

Группа	Время выхода за пределы круга всеми четырьмя лапами, с
Контрольная	66,89±30,89
Экспериментальная	113,33±4,22*

Примечание: * – установлены статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) в сравнении с контрольной группой (Т-критерий Стьюдента)

Таблица 3

Двигательная активность крысят на 26-е сутки жизни (тест «Черно-белая камера»)

Группа	Количество, шт.	
	вертикальных стоек	переходов между камерами
Контрольная	10,67±3,42	9,50±1,84
Экспериментальная	0,80±0,37*	3,80±1,02*

Примечание: * – установлены статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) в сравнении с контрольной группой (Т-критерий Стъюдента).

Высокая скорость формирования вестибулярной функции и координации движений у животных, подвергавшихся стрессу раннего периода жизни, вероятно, связана с активацией стресс-реализующих систем, в т. ч. гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, а также с быстрыми изменениями функционирования нейромедиаторных систем мозга под влиянием гормонов стресса [3]. Повышение уровня глюкокортикоидов приводит к увеличению активности тирозингидроксилазы – фермента, определяющего скорость биосинтеза дофамина и норадреналина, превращая тирозин в диоксифенилаланин. Исследования последних лет показали, что рост активности тирозингидроксилазы в раннем онтогенезе при введении как дексаметазона, так и гидрокортизона сопровождается увеличением матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) фермента. Отсроченные последствия гормонального воздействия распространяются на уровень дофамина и норадреналина, обмен нейротрансмиттеров при стрессе, а также на регулируемые катехоламинами функции и поведение животных [4, 5], что сопровождается психомоторным возбуждением, общим возбуждением ЦНС. Вероятно, именно искусственно вызванные изменения в активности дофаминергической системы мозга и привели к раннему созреванию двигательных рефлексов [6].

Результаты, полученные в тесте «Выход из круга» для животных, подвергавшихся социальной депривации от матери, также связаны с воздействием на мозг глюкокортикоидов, однако уже с отсроченным влиянием. У крыс экспрессия глюкокортикоидных рецепторов в мозге детектируется с 12-го дня эмбриогенеза во многих областях мозга [7]. К концу беременности, когда эндогенный уровень кортикостерона высок, и гипоталамо-гипофизарная система становится активной, экспрессия этих рецепторов увеличивается по всему мозгу. Однако длительное повышение уровня глюкокортикоидов задерживает созревание нейронов, глии, сосудистой сети и миелинизацию, тем самым значительно изменяя нейронную структуру и формирование синапсов, а также ингибируя нейрогенез. Это может приводить к замедлению процессов образования нейронных связей, регулирующих моторные функции [6, 8].

У животных, подвергавшихся отлучению от матери, стресс раннего периода жизни, вероятнее всего, способствовал снижению уровня мРНК глюкокортикоидного рецептора, что сопровождалось усилением симптомов депрессивно-

подобного поведения [9, 10], среди которых снижение двигательной активности.

Заключение. Таким образом, проведенное исследование демонстрирует, что стресс раннего периода жизни существенно влияет на сроки формирования двигательных навыков у модельных животных. В первые дни жизни наблюдается ускорение созревания рефлексов, связанных с вестибулярной функцией. Однако в дальнейшем отмечается снижение темпов моторного развития, что, вероятно, значительно сказывается на формировании сложных двигательных программ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Öztürk, H. N. O. Fetal Programming: Could Intrauterin Life Affect Health Status in Adulthood? / H. N. O. Öztürk, P. F. Türker // Obstet. Gynecol. Sci. – 2021. – № 3. – P. 473–483.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Early Life Stress and Trauma: Developmental Neuroendocrine Aspects of Prolonged Stress System Dysregulation / A. Agorastos, P. Pervanidou, G. P. Chrousos, G. Kolaitis // Hormones (Athens). – 2018. – № 4. – P. 507–520.
4. Тирозингидроксилаза мозга и ее регуляция глюкокортикоидами / Е. В. Сухарева, Т. С. Калинина, В. В. Булыгина, Н. Н. Дыгало // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2016. – № 2. – С. 212–219.
5. Системный контроль молекулярно-клеточных и эпигенетических механизмов долгосрочных последствий стресса / А. И. Вайдо, Н. А. Дюжикова, Н. В. Ширяева [и др.] // Генетика. – 2009. – № 3. – С. 342–348.
6. Влияние хронического стресса на относительный уровень экспрессии генов дофаминовых рецепторов / Е. В. Валеева, И. И. Семина, А. Г. Галеева [и др.] // Казан. мед. журн. – 2022. – № 3. – С. 418–426.
7. Effects of neonatal dexamethasone and CpdA on the expression of genes for apoptosis regulator proteins in the neonatal hippocampus / D. A. Lanshakov, E. V. Sukhareva, V. V. Bulygina [et al] // Integrative Physiology. – 2021. – № 1. – P. 41–48.
8. Генетические предикторы регуляции активности стресс-системы / С. Н. Колюбаева, А. М. Иванов, О. В. Протасов [и др.] // Изв. Рос. Воен.-мед. акад. – 2020. – № 2. – С. 35–45.
9. Шишкина, Г. Т. Глюкокортикоидная гипотеза депрессии: история и перспективы / Г. Т. Шишкина, Н. Н. Дыгало // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2016. – № 2. – С. 198–203.
10. Effect of Social Isolation Stress on Saliva BDNF in Rat / Y. Nakagawa, M. To, J. Saruta [et al] // J. Oral. Sci. – 2019. – № 4. – P. 516–520.

REFERENCES

1. Öztürk H.N.O., Türker P.F. Fetal Programming: Could Intrauterin Life Affect Health Status in Adulthood? *Obstet. Gynecol. Sci.*, 2021, no. 3, pp. 473–483.
2. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Moscow: Grif i K, 2012. 944 p. (in Russ.)
3. Agorastos A., Pervanidou P., Chrousos G.P., Kolaitis G. Early Life Stress and Trauma: Developmental Neuroendocrine Aspects of Prolonged Stress System Dysregulation. *Hormones (Athens)*, 2018, no. 4, pp. 507–520.
4. Sukhareva E.V., Kalinina T.S., Bulygina V.V., Dygalo N.N. Brain tyrosine hydroxylase and its regulation by glucocorticoids. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2016, no. 2, pp. 212–219. (in Russ.)
5. Vajdo A.I., Dyuzhikova N.A., Shiryaeva N.V. et al. Systemic control of molecular-cellular and epigenetic mechanisms of long-term effects of stress. *Russian Journal of Genetics*, 2009, no. 3, pp. 342–348. (in Russ.)
6. Valeeva E.V., Semina I.I., Galeeva A.G., Mukhametshina A.D., Mukhametshina R.D., Kravtsova O.A. Effect of chronic stress on the relative level of dopamine receptor gene expression. *Kazan medical journal*, 2022, no. 3, pp. 418–426. (in Russ.)
7. Lanshakov D.A., Sukhareva E.V., Bulygina V.V., Lagunov T.A., Kalinina T.A. Effects of neonatal dexamethasone and CpdA on the expression of genes for apoptosis regulator proteins in the neonatal hippocampus. *Integrative Physiology*, 2021, no. 1, pp. 41–48.
8. Kolyubaeva S.N., Ivanov A.M., Protasov O.V., Krivoruchko A.B., Eliseeva M.I. Genetic predictors

of regulation of the activity of a stress-system. *Russian Military Medical Academy Reports*, 2020, no. 2, pp. 35–45. (in Russ.)
9. Shishkina G.T., Dygalo N.N. The glucocorticoid hypothesis of depression: history and perspectives. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2016, no. 2, pp. 198–203. (in Russ.)
10. Nakagawa Y., To M., Saruta M.J., Yamamoto Y., Yamamoto T., Shimizu T., Kamata Y., Matsuo M., Tsukinoki K. Effect of Social Isolation Stress on Saliva BDNF in Rat. *J. Oral. Sci.*, 2019, no. 4, pp. 516–520.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:
Дарья Сергеевна Громова – старший преподаватель кафедры общей и молекулярной биологии, старший преподаватель кафедры нормальной физиологии, Самарский государственный медицинский университет, Самара, e-mail: d.s.gromova@samsmu.ru.
Нелли Рустамовна Попова – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией изотопных исследований, Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, e-mail: grmvadarja@rambler.ru.
Александр Иванович Будаев – преподаватель кафедры нормальной физиологии, Самарский государственный медицинский университет, Самара, e-mail: a.i.budaev@samsmu.ru.
Снежанна Ивановна Павленко – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры нормальной физиологии, Самарский государственный медицинский университет; доцент кафедры физиологии человека и животных, Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, e-mail: pavlenko.snezhanna@mail.ru.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Darya S. Gromova – Lecturer of the Department of General and Molecular Biology, lecturer of the Department of Normal Physiology, Samara State Medical University, Samara, e-mail: d.s.gromova@samsmu.ru.
Nelli R. Popova – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Isotope Research, Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of RAS, Puschino, e-mail: grmvadarja@rambler.ru.
Aleksandr I. Budaev – Assistant of the Department of Normal Physiology, Samara State Medical University, Samara, e-mail: a.i.budaev@samsmu.ru.
Snezhanna I. Pavlenko – Candidate of Biological Sciences, Docent, Associate Professor of the Department of Normal Physiology, Samara State Medical University; Associate Professor of the Department of Human and Animal Physiology, Samara National Research University, Samara, e-mail: pavlenko.snezhanna@mail.ru.

Для цитирования: Особенности созревания моторной сферы у крыс, подвергавшихся стрессу раннего периода жизни / Д. С. Громова, Н. Р. Попова, А. И. Будаев, С. И. Павленко // Современные вопросы биомедицины. – 2024. – Т. 8. – № 4(30). DOI: 10.24412/2588-0500-2024_08_04_20

For citation: Gromova D.S., Popova N.R., Budaev A.I., Pavlenko S.I. Motor sphere maturation in rats exposed to early-life stress. *Modern Issues of Biomedicine*, 2024, vol. 8, no. 4(30). DOI: 10.24412/2588-0500-2024_08_04_20