

УДК 577.171.52+577.17.05+57.022

## ПРЕНАТАЛЬНЫЙ СТРЕСС И АДАПТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ПОТОМКОВ: РОЛЬ ПЛАЦЕНТАРНОГО СЕРОТОНИНА

© 2022 г. Н. С. Бондаренко<sup>1</sup>, С. Н. Воронова<sup>1</sup>, Е. Е. Воронежская<sup>1</sup>, В. И. Мельникова<sup>1,\*</sup>

Представлено академиком РАН В.А. Ткачуком

Поступило 11.12.2021 г.

После доработки 12.01.2022 г.

Принято к публикации 12.01.2022 г.

Исследовали влияние умеренного пренатального стресса у мышей, приводящего к повышению уровня серотонина в плаценте, на формирование адаптивного поведения у потомства мужского пола в возрасте 35 дней. Показали, что у мышей линии BalbC ежедневная иммобилизация в течение 1 ч в период с 11 по 14 дни беременности приводила к повышению уровня серотонина в плаценте и тканях плода на 15 день внутриутробного развития. Согласно результатам поведенческого теста “резидент-интродер”, потомки самок, подвергавшихся стрессу во время беременности, демонстрировали более реактивное поведение во взрослом состоянии и были менее склонны защищать свою территорию. Таким образом, серотонин, образующийся в плаценте под действием стресса, может выступать посредником между окружающей средой и организмом и обуславливать формирование будущего адаптивного поведения потомства.

*Ключевые слова:* серотонин, пренатальное развитие, плацента, копинг-стратегии, адаптивное поведение, мыши

DOI: 10.31857/S2686738922020056

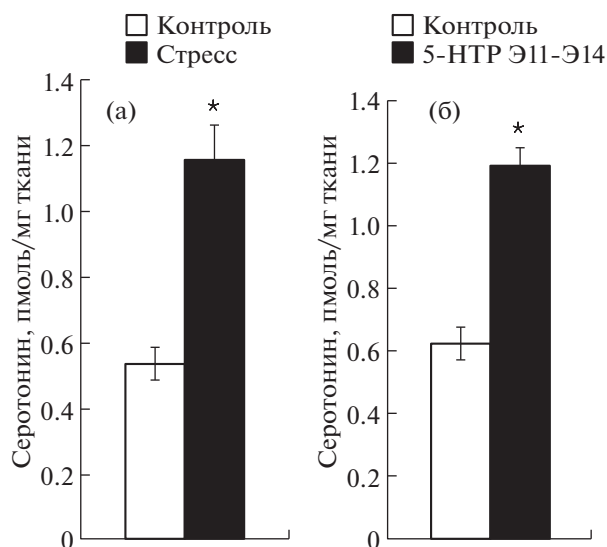
В пренатальном периоде развития у млекопитающих факторы внешней среды способны влиять на реализацию генетической программы развития плода с помощью различных путей и сигнальных молекул. Одним из таких активно изучаемых сигнальных соединений является серотонин – ключевой регулятор пролиферации, апоптоза, дифференцировки и миграции клеток в развивающемся организме [1, 2]. Установлена важная роль серотонина в контроле формирования нервной системы плода [3]. Модуляция уровня серотонина в мозге животных в критические периоды пренатального развития приводит к изменениям в процессе формирования межнейронных связей [4].

Известно, что у мышей плацента играет ведущую роль в поддержании необходимого уровня

серотонина у плода в период с 11 по 16 дни эмбрионального развития (Э11–Э16), когда происходит активный нейрогенез и рост аксонов в мозге [5]. Синтез серотонина в плаценте чувствителен к влиянию внешних факторов. Например, умеренный стресс или воспаление у беременной самки повышает уровень серотонина в плаценте и влияет на формирование иннервации переднего мозга плода [6]. Причем вызванные изменения сохраняются на протяжении постнатальной жизни [7, 8], и могут лежать в основе дальнейших изменений в поведении животных во взрослом состоянии.

В данной работе мы исследовали влияние факторов внешней среды на формирование адаптивного поведения у потомства и роль плацентарного серотонина в этом процессе. Была использована описанная ранее модель умеренного пренатального стресса, приводящая к повышению синтеза серотонина в плаценте мышей [9]. Мы оценивали формирование стратегий преодоления трудностей (копинг-стратегий) как аспекта адаптивного поведения у потомства мужского пола на 35 день постнатального развития (П35).

<sup>1</sup>Институт биологии развития  
им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия  
\*e-mail: v.melnikova@idbras.ru



**Рис. 1.** Концентрация серотонина в плаценте мышей после умеренного стресса (а) или перорального введения предшественника серотонина (5-НТР) (б). Беременных самок подвергали иммобилизационному стрессу в течение 1 ч ежедневно с Э11 по Э14; концентрацию серотонина в плаценте определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на Э15. Контролем служили интактные беременные самки.  $n = 10$  плацент от 3 беременных самок в каждой группе. Результаты представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка среднего; \* –  $p < 0.05$  по сравнению с контролем (тест Манна–Уитни).

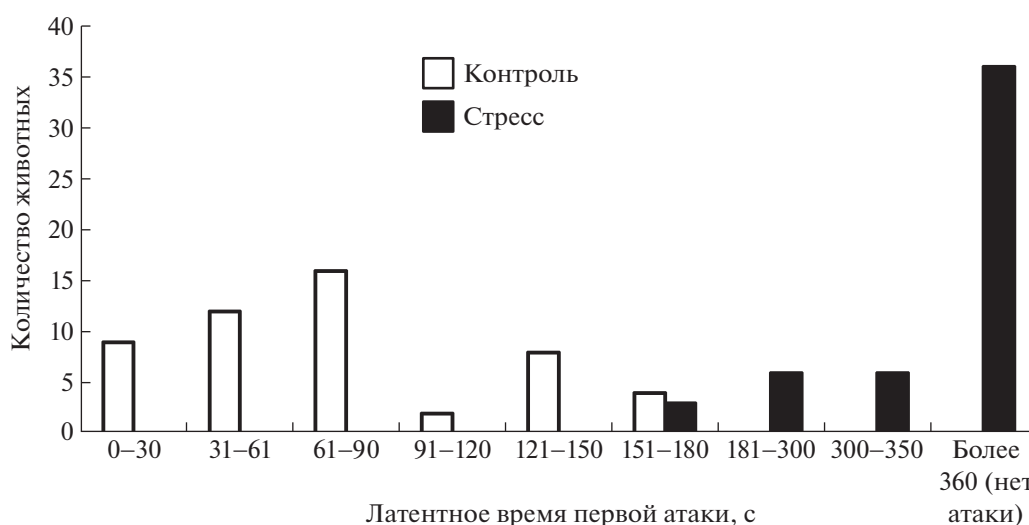
Работа проведена на мышах линии BalbC. Беременных самок подвергали стрессу (иммобилизация) ежедневно в период Э11–Э14. В дополнительной серии экспериментов беременные самки в тот же период ежедневно получали перорально предшественник серотонина 5-гидрокситриптофан (5-НТР) в дозе 1 мг/кг. Контролем служили интактные беременные самки. Серотонин в плаценте и тканях плода определяли на Э15 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии [10]. Для оценки формирования адаптивного поведения потомства использовали стандартный тест “резидент-интродер” [11] на П35. Все манипуляции с мышами одобрены Локальным этическим комитетом ИБР РАН (протокол № 22 от 15 марта 2018 г.).

Для моделирования пренатального стресса была использована ранее описанная схема, в которой умеренный стресс (ежедневно в течение 2 ч в период Э10–Э16) вызывал повышение уровня серотонина в плаценте у мышей линии C57BL/6 [9]. Однако на мышах линии BalbC такое воздействие снижало уровень серотонина в плаценте ( $0.538 \pm 0.050$  и  $0.302 \pm 0.050$  пмоль/мг ткани в контроле и при стрессе соответственно). Мы предположили, что это может быть обусловлено разной чувствительностью к стрессу мышей этих линий, и скорректировали условия эксперимента, уменьшив продолжительность стресса до 1 ч в день в период Э11–Э14. В результате это привело к двукратному увеличению серотонина в плаценте на Э15 (рис. 1а).

В группе мышей, получавших предшественник серотонина в физиологических концентрациях, выявлено повышение уровня серотонина в плаценте на Э15, сравнимое с таковым после воздействия стресса (рис. 1б).

Согласно данным литературы, у мышей плацента играет ведущую роль в поддержании необходимого уровня серотонина у плода в период Э11–Э16, а затем возрастает синтез серотонина в собственных тканях плода, и роль плаценты ослабевает [5]. В данной работе животных подвергали стрессу именно в период ведущей роли плаценты как источника серотонина. Повышение его уровня в плаценте после стресса может являться причиной дальнейших изменений в развитии мозга плодов, а затем и в поведении животных уже во взрослом состоянии [8]. Известно, что серотонин матери практически не проходит через плаценту к плоду [5].

Мы показали, что влияние стресса на синтез серотонина в плаценте зависит от интенсивности воздействия. Повышение в результате воздействия умеренного стресса сопоставимо с эффектом от перорального введения предшественника серотонина 5-НТР. Существуют данные о том, что при воспалении, которое также является стрессом, могут повышаться доступность 5-НТР в плаценте и активность триптофангидроксилазы [6]. Хотя точный механизм этого повышения остается неизвестным, можно предположить, что стресс в наших экспериментах также повышал доступность предшественника для синтеза



**Рис. 2.** Влияние пренатального стресса на копинг-стратегии у потомства. Тест “резидент-интродер” проведен на 35-дневных самцах мышей ( $n = 50$ ), подвергавшихся пренатальному стрессу в период Э11–Э14. Контролем служили потомки интактных беременных мышей ( $n = 50$ ). Наблюдение за животными проводили в течение 6 мин.

серотонина в той же мере, что и кормление самок 5-НТР. Вопрос о том, с чем связано снижение уровня серотонина в плаценте при увеличении интенсивности стресса, требует дальнейших исследований.

Мы также обнаружили, что умеренный стресс достоверно повышал уровень серотонина не только в плаценте, но и в тканях плода с  $0.012 \pm 0.002$  пмоль/мг до  $0.022 \pm 0.002$  пмоль/мг ткани ( $p < 0.05$ ). Согласно данным литературы, как слишком низкий, так и слишком высокий уровень серотонина в мозге плода может иметь значение при формировании межнейронных связей [8]. Рецепторы к серотонину у грызунов появляются в онтогенезе довольно рано, еще до формирования этих связей, и серотонин может оказывать морфогенетическое действие на эти процессы [12]. У мышей рост аксонов активно происходит в период Э11–Э16 [5], когда плацента функционирует как ведущий источник серотонина. Таким образом, изменения уровня серотонина в мозге животных в критические периоды внутриутробного развития могут приводить к изменениям в процессе формирования межнейронных связей, а следовательно, и поведения, в частности, в способности этих животных реагировать на меняющиеся условия окружающей среды, что может быть важно для выживания популяции в целом.

Для анализа возможного влияния умеренного пренатального стресса на адаптивное поведение взрослых потомков мы исследовали формирование у них стратегий преодоления трудностей с помощью теста “резидент-интродер”. Согласно полученным данным, большинство мышей кон-

трольной группы атаковали интродера в течение первых 2 мин (рис. 2).

В целом все мыши этой группы демонстрировали атаку на интродера в течение 3 мин. Мыши из опытной группы начинали атаковать интродера не ранее, чем через 2 мин после его появления в клетке. У большинства мышей этой группы не наблюдалось атакующего поведения в течение всего периода наблюдения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что увеличение уровня серотонина в плаценте в пренатальном периоде после воздействия стресса сопровождалось изменением в поведении потомства мужского пола. Исследование проводили на самцах в соответствии с данными литературы о том, что у самок, чьи матери подвергались стрессу в период беременности, последующие изменения в поведении отличались от самцов, и затрагивали такие аспекты, как тревожность и депрессию [13]. У самцов изменения касались в основном аспектов социального поведения [4]. Используемый нами поведенческий тест как раз характеризует изменения аспектов поведения, характерных именно для самцов. Известно также, что потомство мужского пола более чувствительно к пренатальному стрессу, чем женского [14].

Стратегии преодоления трудностей, или копинг-стратегии, представляют собой поведенческие и физиологические адаптации к различным условиям окружающей среды и базируются на особенностях функционирования нервной и нейроэндокринной систем. Выделяют два типа поведения, определяющих копинг-стратегии – проактивный и реактивный. Проактивный тип отличается высокой агрессивностью, высокой скоростью

принятия решений, реактивный тип — низкой агрессивностью, большей гибкостью, легче адаптируется к меняющимся внешним условиям [15].

Мы видим, что животные из опытной группы отличались от контроля гораздо большей социальной гибкостью и лабильностью и низкой агрессивностью, тогда как для контрольных мышей было характерно стремление защитить свою территорию. То есть поведение потомков после пренатального стресса стало более реактивным. В свою очередь, умеренный стресс может возникать у беременных самок при изменении условий окружающей среды. Соотношение в популяции количества животных с разными типами поведения, особенно у видов с выраженным социальным взаимодействием, в целом определяет способность популяции к выживанию как в стабильных, так и меняющихся внешних условиях. Увеличение внутри группы доли животных, демонстрирующих реактивное поведение, может давать этой группе преимущество в нестабильных условиях окружающей среды, что важно для выживания популяции в этой ситуации.

Таким образом, плацентарный серотонин может опосредовать влияние внешней среды на развитие плода, и вызывать у потомства долгосрочные изменения паттернов поведения, которые лежат в основе их адаптивных возможностей.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы утверждают об отсутствии конфликта интересов.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование проводилось в рамках госзадания № 0088-2021-0020.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда 17-14-01353.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Gaspar P., Cases O., Maroteaux L.* The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics // *Nature Reviews Neuroscience*. 2003. V. 4. № 12. P. 1002–1012.
2. *Hanswijk S.I., Spoelder M., Shan L., et al.* Gestational factors throughout fetal neurodevelopment: the serotonin link // *International journal of molecular sciences*. 2020. V. 21. № 16. P. 5850.
3. *Whitaker-Azmitia P.M., Druse M., Walker P., et al.* Serotonin as a developmental signal // *Behavioural brain research*. 1995. V. 73. № 1–2. P. 19–29.
4. *Gur T.L., Palkar A.V., Rajasekera T.A., et al.* Prenatal stress disrupts social behavior, cortical neurobiology and commensal microbes in adult male offspring // *Behavioural brain research*. 2019. V. 359. P. 886–894.
5. *Bonnin A., Goeden N., Chen K., et al.* A transient placental source of serotonin for the fetal forebrain // *Nature*. 2011. V. 472. № 7343. P. 347–350.
6. *Goeden N., Velasquez J., Arnold K.A., et al.* Maternal inflammation disrupts fetal neurodevelopment via increased placental output of serotonin to the fetal brain // *Journal of Neuroscience*. 2016. V. 36. № 22. P. 6041–6049.
7. *Miyagawa K., Tsuji M., Fujimori K., et al.* Prenatal stress induces anxiety-like behavior together with the disruption of central serotonin neurons in mice // *Neuroscience research*. 2011. V. 70. № 1. P. 111–117.
8. *Velasquez J.C., Zhao Q., Chan Y., et al.* In utero exposure to citalopram mitigates maternal stress effects on fetal brain development // *ACS chemical neuroscience*. 2019. V. 10. № 7. P. 3307–3317.
9. *Chen H.J., Antonson A.M., Rajasekera T.A., et al.* Prenatal stress causes intrauterine inflammation and serotonergic dysfunction, and long-term behavioral deficits through microbe- and CCL2-dependent mechanisms // *Translational psychiatry*. 2020. V. 10. № 1. P. 1–12.
10. *Ivashkin E., Khabarova M.Y., Melnikova V., et al.* Serotonin mediates maternal effects and directs developmental and behavioral changes in the progeny of snails // *Cell Reports*. 2015. V. 12. P. 1144–1158.
11. *Koolhaas J.M., Coppens C.M., de Boer S.F., et al.* The resident-intruder paradigm: a standardized test for aggression, violence and social stress // *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2013. № 77. P. e4367.
12. *Buznikov G.A., Lambert W.H., Lauder J.M.* Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis // *Cell and tissue research*. 2001. V. 305. № 2. P. 177–186.
13. *Gur T.L., Shay L., Palkar A.V., et al.* Prenatal stress affects placental cytokines and neurotrophins, commensal microbes, and anxiety-like behavior in adult female offspring // *Brain, behavior, and immunity*. 2017. V. 64. P. 50–58.
14. *Hodes G.E., Epperson C.N.* Sex differences in vulnerability and resilience to stress across the life span // *Biological psychiatry*. 2019. V. 86. № 6. P. 421–432.
15. *Koolhaas J.M., Korte S.M., de Boer S.F., et al.* Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1999. V. 23. № 7. P. 925–935.

**PRENATAL STRESS AND ADAPTIVE BEHAVIOR OF OFFSPRING:  
THE ROLE OF PLACENTAL SEROTONIN****N. S. Bondarenko<sup>a</sup>, S. N. Voronova<sup>a</sup>, E. E. Voronezhskaya<sup>a</sup>, and V. I. Melnikova<sup>a,#</sup>**<sup>a</sup>*Koltsov Institute of Developmental biology RAS, Moscow, Russian Federation*<sup>#</sup>*e-mail: v.melnikova@idbras.ru*

Presented by Academician of the RAS V.A. Tkachyuk

The effect of mild prenatal stress in mice, leading to an increase in the placental serotonin level, on the formation of adaptive behavior in male offspring at the age of 35 days was studied. It was shown that in BalbC mice daily immobilization for 1 hour during the period from 11 to 14 days of pregnancy led to an increase in placental and fetal serotonin levels on the 15th day of prenatal development. According to “resident-intruder” behavioral test, the prenatally stressed mice showed more reactive behavior in adulthood and low tendency to defend their territory. Thus, placental serotonin, formed under the stress condition, may act as a mediator between the environment and the fetuses and determine the adaptive behavior of offspring.

*Keywords:* serotonin, prenatal development, placenta, coping-styles, adaptive behavior, mice