

© Коллектив авторов, 2023

УДК 616-092.9

Лобанов А.В., Захарова И.А., Лобанова Н.Н., Морозов С.Г.

Раннее соматическое и сенсомоторное развитие потомства от мышей с введением полного адьюванта Фрейнда до наступления беременности

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,
125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

Введение. Полный адьювант Фрейнда используется при иммунизации животных различными антигенами. Адьювантный эффект связан с активацией гуморального и клеточно-опосредованного иммунитета. Воздействие полного адьюванта Фрейнда во время беременности у мышей может вызывать активацию иммунитета и влиять на развитие их потомства.

Цель исследования – изучение влияния иммунизации самок мышей полным адьювантом Фрейнда до наступления беременности на соматическое созревание и сенсомоторное развитие их потомства в первые три недели после рождения.

Методика. Самок мышей ICR подвергали однократной иммунизации полным и трехкратной реиммунизации неполным адьювантом Фрейнда. В таком протоколе введения основное иммуностимулирующее действие обеспечивалось полным адьювантом Фрейнда и не вызывало осложнений, вызываемых реиммунизацией этим адьювантом. У иммунизированных животных получали потомство, которое тестировали в батарее тестов для оценки развития потомства в течение трех недель гнездового периода с оценкой соматического и сенсомоторного развития.

Результаты. Иммунизация самок мышей вызывала отставание соматического и сенсомоторного развития их потомства. Нарушения соматического созревания были выявлены начиная с 3 сут постнатального развития и фиксировались на протяжении всего периода тестирования в течение 21 дня. Сенсомоторные нарушения были выявлены от самых простых координаций пальцев передних конечностей на 3 сут развития до самых сложных при спуске по вертикальному канату и прохождению по приподнятой планке в конце гнездового периода.

Заключение. Полученные результаты необходимо учитывать при моделировании аутоиммунных процессов у животных во время беременности с использованием адьювантов Фрейнда.

Ключевые слова: мыши; полный адьювант Фрейнда; активация материнского иммунитета; соматическое и сенсомоторное развитие

Для цитирования: Лобанов А.В., Захарова И.А., Лобанова Н.Н., Морозов С.Г. Раннее соматическое и сенсомоторное развитие потомства от мышей с введением полного адьюванта Фрейнда до наступления беременности. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67 (3): 29-38.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.29-38

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Морозов С.Г., Лобанов А.В.; сбор и обработка материала – Лобанов А.В., Захарова И.А., Лобанова Н.Н.; подготовка иллюстративного материала – Лобанова Н.Н.; статистическая обработка – Лобанов А.В.; написание текста – Лобанов А.В.; редактирование – Морозов С.Г., Лобанов А.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Лобанов Александр Владимирович, e-mail: lobanov-av@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБНУ «НИИОПП» темы НИР FGFU-2022-0011.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 21.06.2023

Принята к печати 12.07.2023

Опубликована 20.09.2023

Lobanov A.V., Zakharova I.A., Lobanova N.N., Morozov S.G.

Early somatic and sensorimotor development of the offspring of mice administered with complete Freund's adjuvant before pregnancy

Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya St. 8, Moscow, 125315, Russian Federation

Introduction. Freund's complete adjuvant is used for modeling autoimmune diseases in animals. The adjuvant effect is related with the activation of humoral and cellular immunity. Exposure of mice to complete Freund's adjuvant during pregnancy can induce immune activation and affect the development of the offspring.

Aim: to study the effect of female mouse immunization with complete Freund's adjuvant before pregnancy on the somatic maturation and sensorimotor development of their offspring in the first three weeks after birth.

Methods. Female ICR mice were subjected to a single immunization with complete Freund's adjuvant and a triple booster immunization with incomplete Freund's adjuvant. With this protocol, complete Freund's adjuvant provided the major immunostimulatory effect and did not cause complications observed in reimmunization with this adjuvant. Offspring of the immunized animals was tested in a developmental test battery during a three-week nesting period, including the assessment of somatic and sensorimotor development.

Results. Immunization of female mice caused a delay in the somatic and sensorimotor development of their offspring. Disorders of the somatic maturation were detected starting from the 3rd day of postnatal development and were observed throughout the entire testing period of 21 days. Sensorimotor disturbances ranged from the simplest coordination of the forelimb fingers on the 3rd day of development to the most complex ones, during descent along a vertical rope and passing along an elevated bar, at the end of the nesting period.

Conclusion. The results of this study should be taken into account in modeling autoimmune processes in animals during pregnancy with Freund's adjuvants.

Keywords: mice; complete Freund's adjuvant; activation of maternal immunity; somatic and sensorimotor development

For citation: Lobanov A.V., Zakharova I.A., Lobanova N.N., Morozov S.G. Early somatic and sensorimotor development of the offspring of mice administered with complete Freund's adjuvant before pregnancy. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(3): 29–38. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.03.29-38

Author's contribution: the concept and design of the study – Morozov S.G., Lobanov A.V.; collection and processing of material – Lobanov A.V., Zakharova I.A., Lobanova N.N.; preparation of illustrative material – Lobanova N.N., statistical processing – Lobanov A.V., text writing – Lobanov A.V., editing – Morozov S.G., Lobanov A.V. Approval of the final version of the article – all authors.

For correspondence: *Aleksandr V. Lobanov*, Senior Researcher, Laboratory of General and perinatal neuroimmunopathology, Institute of General Pathology and Pathophysiology, e-mail: lobano-av@yandex.ru

Information about the authors:

Lobanov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-5159-3227>

Zakharova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-5648-4214>

Lobanova N.N., <https://orcid.org/0000-0001-5860-0453>

Morozov S.G., <https://orcid.org/0000-0001-5822-5729>

Financing. The work was financially supported by the Institute of General Pathology and Pathophysiology on the research topic FGFU-2022-0011.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Received 21.06.2023

Accepted 12.07.2023

Published 20.09.2023

Адьюванты – это вещества, используемые для стимуляции гуморального и клеточно-опосредованного иммунного ответа [1]. Полный адьювант Фрейнда (ПАФ) широко используются при иммунизации животных различными антигенами [2, 3]. ПАФ в основном состоит из легкого минерального масла и убитых нагреванием микобактериальных клеток (авирулентные *M.tuberculosis* H37Ra) [3]. Масляный компонент адьюванта при смешивании с водным раствором образует эмульсию, которая сохраняется в месте введения, а также печени и селезенке до нескольких месяцев, куда попадает после фагоцитоза макрофагами [3]. Такое депо адьюванта в организме обеспечивает продолжительную активацию иммунитета. Основной адьювантный эффект ПАФ связан с инактивированными микобактериями и во многом аналогичен реакции иммунитета при заражении живыми патогенами [3]. В экспериментальных работах ПАФ обычно применяют только для начальной иммунизации животных, а последующие реиммунизации, если они необ-

ходимы, проводят с использованием неполного адьюванта Фрейнда (НАФ) без микобактерии, что снижает побочные эффекты ПАФ при повторном введении (гранулемы, язвенный некроз, стерильные абсцессы в месте инъекции) [3]. Однократной инъекции ПАФ достаточно для активации иммунитета и развития воспаления [4]. Установлено, что через 14 дней после введения ПАФ в подушечку лапы крысам у животных сохраняется повышенный уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, and TNF- α в крови и мозговой ткани, активируется микроглия, возникает дисбаланс возбуждающих/тормозных рецепторов и нейротрансмиттеров в мозге, возникает тревожное поведение [5]. Через 28 дней после однократной иммунизацией ПАФ у животных формируется хронический воспалительный процесс [3]. Введение ПАФ с определенными антигенами беременным мышам используется для изучения влияния аутоиммунного гуморального ответа самки на развитие нервной системы ее потомства [2]. При этом воспалительный ответ, который индуциру-

ется адьювантом за счет микобактериального компонента у беременных животных, может влиять на развитие их потомства. Исследования причин возникновения нервно-психических заболеваний у детей выявили их взаимосвязь с активацией материнского иммунитета (АМИ) во время беременности при инфекциях [6]. Установлено, что нарушения нормального развития мозга нередко связаны с активацией иммунитета и воспаления в целом, а не с действием конкретного патогена [7], а тяжесть осложнений в большей степени зависит от сроков возникновения АМИ во время беременности [7, 8].

При АМИ провоспалительные цитокины, такие как IL-6, TNF α , IL-1 β и IL-17A, проникают в развивающийся мозг плода и активируют микроглию [7], которая сама начинает секретировать провоспалительные цитокины (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-23 и IL-18) [9], а также В1- белок с высокой электрофоретической подвижностью амфотерин, кальций связывающий белок S100B, нуклеозидтрифосфаты, белки компонента [10], активные формы кислорода [11]. С активацией микроглии в пренатальном периоде связаны: снижение числа нейрональных клеток-предшественников, дефицит дофаминергических и серотонинергических нейронов, изменение плотности синаптических контактов нейронов, дисбаланс в возбуждающе-тормозной синаптической функции нейронной сети, усиление апоптотической гибели нервных клеток [12]. Также установлено, что АМИ вызывает изменения экспрессии генов внутри зародыша, репрессию путей развития нервной системы и изменения в развитии мозга плода [13].

В большинстве современных экспериментальных работ с нарушениями развития нервной системы и поведения на животных, вызванных АМИ, используется синтетическая вирусная РНК полицитидиловой кислоты (Poly (I:C)) или липополисахарид бактериального эндотоксина (ЛПС) [13], которые вводят на различных сроках беременности животных. Воздействие ПАФ, как активатора иммунитета, во время беременности на развитие потомства животных менее изучено. Наибольший интерес представляют самые ранние изменения в развитии потомства после рождения, до того момента, когда эти нарушения компенсируются.

ПАФ используется при иммунизации самок мышей различными антигенами с целью изучения развития их потомства, при этом сам адьювант может оказывать воздействие на эмбрио и фетогенез за счет активации иммунитета и вызывать различные нарушения развития в постнатальном периоде. Поэтому целью дан-

ной работы являлось изучение влияния иммунизации самок мышей ПАФ до наступления беременности на соматическое созревание и сенсомоторное развитие их потомства в первые три недели после рождения.

Методика

В исследовании были использованы половозрелые самки и самцы мышей ICR, полученные из питомника лабораторных животных ФИБХ РАН, Пушкино. Эксперименты проводились в соответствии с приказом Минздрава России №199 от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и регламентом декларации ЕС от 22 сентября 2010 г. об использовании лабораторных животных в научных целях. Работы на животных проводили в лаборатории общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ «НИИОПП» Исследование одобрено локальным Этическим комитетом института (протокол №3 от 08.06.2023 г.)

В исследовании было сформировано 2 группы мышей: контрольная (интактная) и экспериментальная (ПАФ). Пять самок экспериментальной группы подвергали однократной иммунизации ПАФ и трехкратной реиммунизации НАФ, пять мышей контрольной группы воздействию не подвергались. Первую иммунизацию проводили в возрасте 8 нед, далее с интервалом 10 сут осуществляли вторую и третью иммунизации, четвертую иммунизацию проводили через месяц после третьей. Для иммунизации одного животного использовали эмульсию, полученную при смешивании 150 мкл физиологического раствора (ПанЭко, Россия) и 150 мкл ПАФ (Sigma, США) или 150 мкл НАФ (Sigma, США). Введение осуществляли подкожно в зоны лимфатических узлов в 4-5 точках. На следующий день после последнего введения НАФ мышей экспериментальной группы ссаживали с интактными самцами. Ссадку мышей интактной группы проводили с интактными самцами в эти же сроки.

После рождения детенышей тестировали с использованием батареи тестов для оценки развивающегося поведенческого фенотипа мышей, разработанный в Институте нормальной физиологии им. П.К. Анохина [14] с 1 по 21 постнатальные сутки (ПС). Соматическое развитие оценивали по динамике массы тела (1-21 ПС), появлению первичной шерсти (3-5 ПС), отхождению ушных раковин (3-5 ПС), появлению нижних резцов (7-11 ПС), смыканию шерсти на животе (10-14 ПС), открытию глаз (13-16 ПС). Сенсомоторное развитие изучали в тестах схватывания палочки пальцами при раздражении подушечки передних конечностей (3-6 ПС), схватывания палочки передними конечностями

стями при удержании животного за хвост (7-15 ПС), удержания передними конечностями при помещении животного на горизонтальный канат (5-12 ПС), координации передних конечностей в направлении палочки, которой раздражают вибриссы, при удержании животного за хвост (10-14 ПС), удерживания на вертикальной сетке (10-15 ПС), подъема по вертикальному канату (12-20 ПС), спуска по вертикальному канату (12-20 ПС), прохождения по приподнятой планке (дорожке) (13-21 ПС). Эксперименты на животных проводили с 15:00 до 20:00.

Динамику массы тела изучали у потомства пяти контрольных ($n=42$) и пяти экспериментальных самок ($n=40$). Потомство трех пометов каждой группы (контрольная группа $n=20$, группа ПАФ $n=22$), отобранные случайным образом, использовали для оценки соматического и сенсомоторного развития.

Все исследуемые параметры, кроме массы тела и числа разошедшихся пальцев на конечностях оценивали бинарно. Положительный результат тестов соматического или сенсомоторного развития оценивали как «1», отрицательный – как «0».

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 7.1 (StatSoft, США). Для результатов, которые оценивались бинарно, вычисляли средние значения для группы в процентах. Для численных

экспериментальных данных рассчитывали средние значения и стандартные отклонения. Бинарные данные сравнивали по Фишеру с определением критерия χ^2 , численные данные – методом ANOVA 2 тест Дункана.

Результаты

Иммунизация самок мышей ПАФ в проведенном исследовании вызывала нарушения соматического созревания у их потомства по всем исследованным признакам. Различия в динамике массы тела у животных исследуемых групп были выявлены с 14-х по 21-е постнатальные сутки (ПС). Животные экспериментальной группы статистически значимо медленнее набирали массу тела в сравнении с интактной группой в этот период с максимальным отставанием на 21 ПС (рис. 1). В первые две недели после рождения различий в динамике массы тела между группами не отмечалось.

Результаты изучения созревания основных соматических параметров животных, представлены в таблице. Развитие животных экспериментальной группы отставало от развития интактной группы на 2-е сут по таким параметрам как отхождение ушных раковин, появление нижних резцов, смыкание шерсти на животе, а на 1-е сут – в появлении первичной шерсти и открытии глаз. Также у животных экспериментальной группы

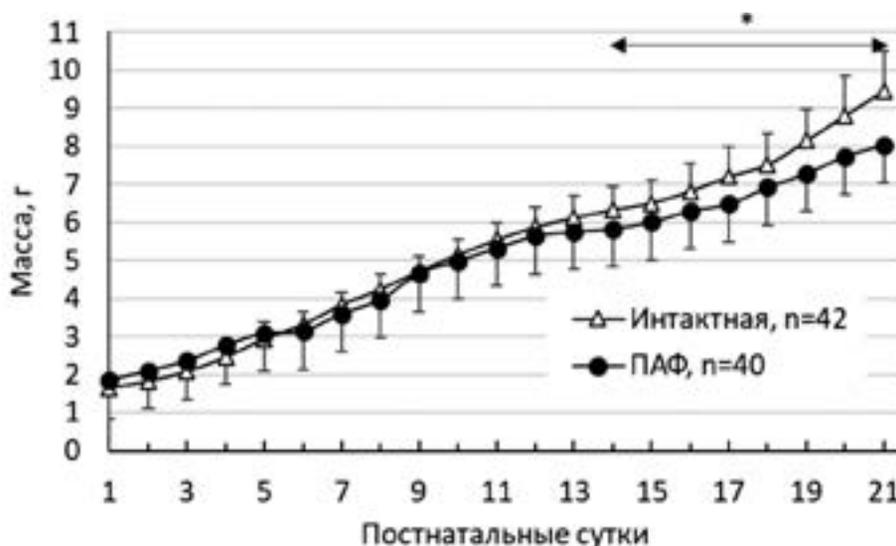


Рис. 1. Влияние введения ПАФ мышам до наступления беременности на динамику массы тела у их потомства в гнездовом периоде. Данные представлены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение; n – количество животных в группе; * – $p < 0,05$ относительно контрольной группы (ANOVA 2, тест Дункана).

Fig. 1. The effect of CFA administration to mice before pregnancy on the dynamics of body weight in their offspring in the nesting period. Data are presented as arithmetic mean \pm standard deviation; n is the number of animals in the group; * – $p < 0.05$ significantly different from the control (ANOVA 2, Duncan's test).

было выявлено отставание в расхождении пальцев на передних и на задних конечностях на 4-е ПС в сравнении с развитием этих параметров у мышей интактной группы. Средние значения числа отделившихся пальцев у мышей интактной группы на передних конечностях и задних конечностях в этот период составляли $3,8 \pm 1,3$ и $2,0 \pm 1,1$, соответственно. У животных экспериментальной группы на 4-е ПС расхождения пальцев на передних и задних конечностях еще не начиналось (число отделившихся пальцев равнялось 0) и было значимо меньше, чем в контроле. Полностью пальцы передних конечностей в обеих группах расходились на 5-е ПС и задних конечностей на 6-е ПС.

Изучение формирования сенсомоторных координаций исследовалось от самых простых двигательных ответов на прикосновение палочки к передним конечностям до сложной двигательной деятельности на приподнятой планке. Прикосновение палочки к подушечке передней конечности вызывает сжатие пальцев у животных. Эта способность формируется в постнатальном онтогенезе в период с 3-х по 6-е ПС. У мышей экспериментальной группы полное развитие этой способности происходило на 6-е ПС, тогда как все мыши интактной группы реагировали на прикосновение начиная с 3-х ПС. Статистически значи-

мые различия между группами были выявлены на 3-и и 4-е ПС (рис. 2, А).

Развитие более сложной координации конечностей оценивалось по способности мышей схватывать палочку передними лапами при удержании животного за хвост и прикосновении палочкой к животу с 7-х по 12-е ПС. У мышей экспериментальной группы эта способность развивалась медленнее (на 7-9-е ПС), чем у мышей интактной группы (рис. 2, Б). Полностью развитие этой способности у мышей интактной группы завершалось на 10-е ПС, а у мышей экспериментальной группы – на 11-е.

Тестирование способности мышей схватываться за горизонтальный канат передними конечностями и удерживаться на нем изучалось с 5-х по 9-е ПС. В экспериментальной группе число животных, способных удержаться на канате передними конечностями было значимо меньше, чем в интактной группе с 5-х по 7-е ПС (рис. 2, В). Способность незрячих животных искать опору передними конечностями при удерживании за хвост и стимуляции вибрисс палочкой исследовалось с 10-х по 13-е ПС. На 10-е ПС в экспериментальной группе значимо меньшее число животных было способно координировать движения в направлении палочки в сравнении с контролем (рис. 2, Г).

Влияние введения ПАФ мышам до наступления беременности на соматическое развитие их потомства в постнатальном периоде

The effect of CFA administration to mice before pregnancy on the somatic development of their offspring in the postnatal period

Показатели соматического развития / Somatic development indicators	Группа / Group	Животные с проявлением соматического признака, % / Animals with somatic trait manifestation, %		
		3-и сут / 3 rd day	4-е сут / 4 th day	5-е сут / 4 th day
Появление первичной шерсти / Fur appearance primordial wool	Интактн/intact	25	100	100
	ПАФ / CFA	0 *	97	100
Отхождение ушных раковин / Ear separation	Интактн/intact	80	100	100
	ПАФ / GFA	5 *	80 *	100
		7-е сут / 7 th day	8-е сут / 8 th day	9-е сут / 9 th day
Появление нижних резцов / Appearance of the down incisors	Интактн/intact	100	100	100
	ПАФ / GFA	0 *	5 *	95
		10-е сут / 10 th day	11-е сут / 11 th day	12-е сут / 12 th day
Смыкание шерсти на животе / Fur closure in the ventral midline	Интактн/intact	100	100	100
	ПАФ / GFA	0 *	60 *	95
		13-е сутки / 13 th day	14-е сутки / 14 th day	15-е сутки / 15 th day
Открытие глаз / Eyes open	Интактн/intact	0	100	100
	ПАФ / GFA	0	0 *	95

Примечание. * – $p < 0,05$ относительно контрольной группы (по Фишеру, критерий χ^2). ПАФ – полный адьювант Фрейнда.

Note. * – $p < 0.05$ significantly different from the control (according to Fisher, Chi2 criterion). GFA Freund's complete adjuvant.

Возможность удержаться и развернуться на вертикальной сетке из положения головой вниз требует от животного способности к координациям движений по поочередному перемещению передних и задних конечностей на сетке и избеганию падения. Тестирование показало, что развитие этой способности отставало у животных экспериментальной группы с 10-х по 13-е ПС в сравнении с контролем (рис. 3, А). Все животные интактной группы справились с удерживанием на сетке, начиная с 12-х ПС, а животные экспериментальной группы – с 14-х.

Подъем и спуск по канату возможен при формировании сложной координации движений конечностей. У мышей экспериментальной группы развитие спо-

собности подниматься и спускаться по канату происходило с отставанием от контроля. Значимо меньшее число животных экспериментальной группы было способно подниматься по канату на 15-е ПС и спускаться по канату на 15-17-е ПС в сравнении с животными интактной группы (рис. 3, Б, В).

С 14-х по 17-е ПС изучали способность мышей проходить по приподнятой планке. Отставание в формировании этой сложной двигательной координации у мышей экспериментальной группы в сравнении с контролем наблюдалось с 14-х по 16-е ПС. Полностью способность проходить по планке формировалась у мышей интактной группы на 16-е ПС, а у мышей группы ПАФ на 17-е ПС (рис. 3, Г).

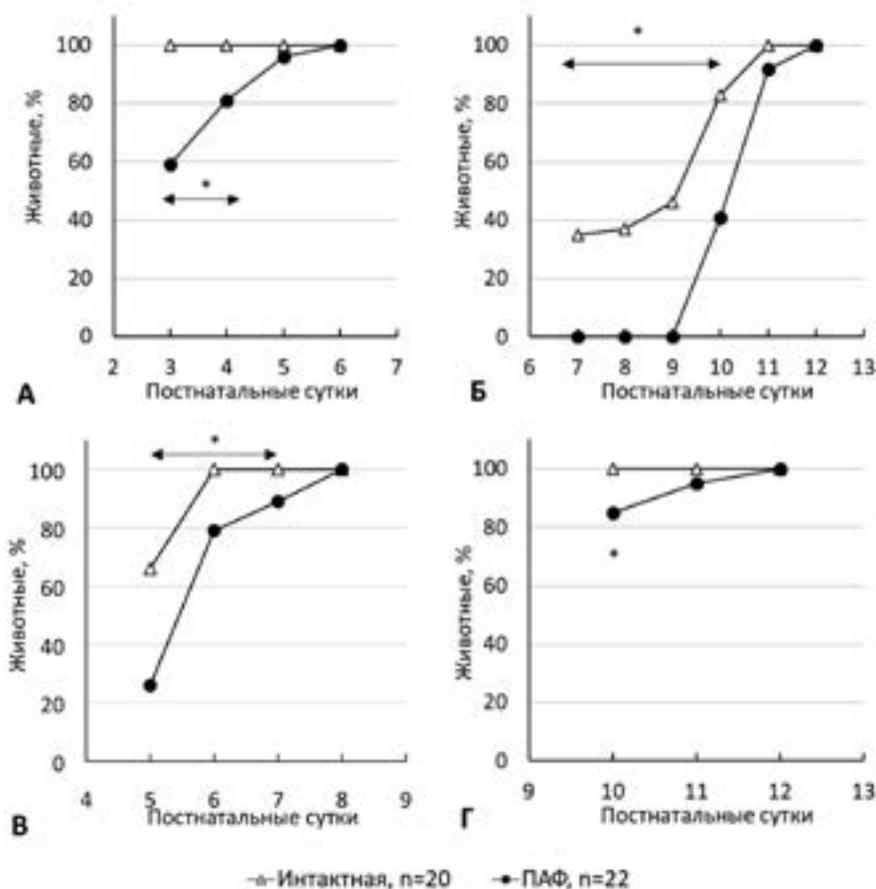


Рис. 2. Влияние введения ПАФ мышам до наступления беременности на формирование у их потомства способности: схватывать палочку пальцами передней конечности (А); схватывать палочку передними конечностями при удерживании животного за хвост (Б); удерживаться на горизонтальном канате передними конечностями (В); координировать передние конечности в направлении палочки, которой раздражают вибриссы животного (Г). Данные представлены в процентах количества животных с сформированными способностями; n – количество животных в группе; * – $p < 0,05$ относительно контрольной группы (по Фишеру, критерий χ^2).

Fig. 2. Influence of the administration of CFA to mice before pregnancy on the formation of the ability in their offspring: to grasp the stick with the fingers of the forelimb (A); grab the stick with the forelimbs while holding the animal by the tail (B); to be kept on a horizontal rope with the forelimbs (C); coordinate the forelimbs in the direction of the stick, which irritates the vibrissae of the animal (D). The data are presented as a percentage of the number of animals with developed abilities; n is the number of animals in the group; * – $p < 0.05$ significantly different from the control (according to Fisher, Chi2 criterion).

Таким образом, иммунизация ПАФ самок мышей вызывала отставание соматического и сенсомоторного созревания их потомства в гнездовом периоде развития. Нарушения физического развития были выявлены начиная с 3-х ПС и фиксировались на протяжении всего периода наблюдения в течение 21 сут. Отставания по каждому параметру развития компенсировались в течение 1-х или 2-х сут. Отставания в наборе массы тела возникали на 14-е сут и совпадали с переходом мышей на взрослое питание. Задержка в наборе массы тела не компенсировалась в гнездовом периоде,

а увеличивалась к 21 ПС. Нарушения созревания сенсомоторных координаций начинались с отставаний координации пальцев передних конечностей на 3 ПС. В дальнейшем онтогенезе нарушения сенсомоторных координаций были выявлены во всех используемых тестах. В простых задачах отставания составляли 1-2 суток, после чего происходила компенсация. В самых сложных тестах таких, как удержание на вертикальной сетке головой вниз, спуск по вертикальному канату и прохождение по приподнятой планке отставания составляли трое суток.

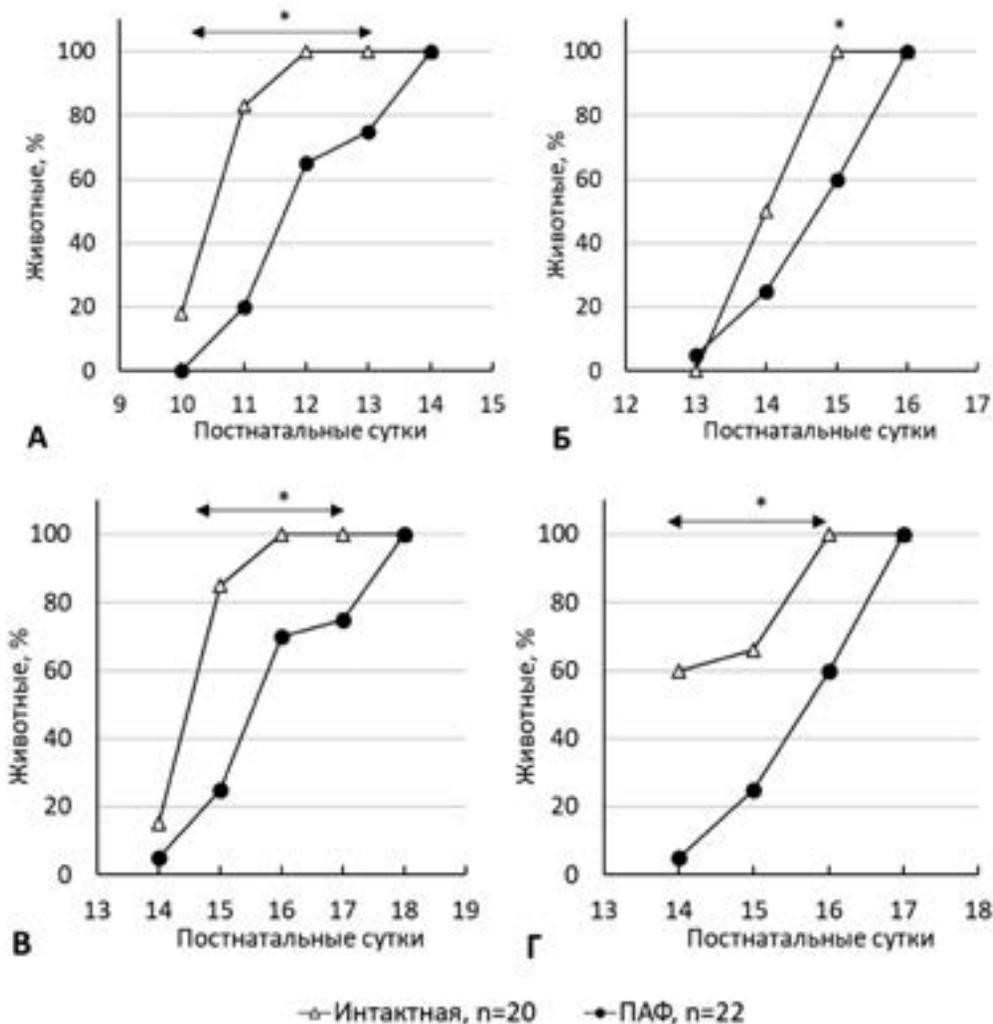


Рис. 3. Влияние введения ПАФ мышам до наступления беременности на формирование у их потомства способности: удерживаться на вертикальной сетке (А); подниматься по вертикальному канату (Б); спускаться по вертикальному канату (В); проходить по приподнятой планке (Г). Данные представлены в процентах количества животных, с сформированными способностями; n -- количество животных в группе; * – $p < 0,05$ относительно контрольной группы (по Фишеру, критерий χ^2).

Fig. 3. The effect of CFA administration to mice before pregnancy on the formation of the ability in their offspring: to stay on a vertical grid (A); climb the vertical rope (B); descend the vertical rope (C); walk along the raised bar (D). The data are presented as a percentage of the number of animals with developed abilities; n is the number of animals in the group; * – $p < 0.05$ significantly different from the control (according to Fisher, χ^2 criterion).

Обсуждение

В проведенном исследовании было изучено влияние однократной иммунизации самок мышей ICR ПАФ и дополнительной трехкратной реиммунизацией НАФ (последнее введение НАФ за 1 сут перед наступлением беременности) на постнатальное развитие их потомства в течение 3 нед гнездового периода. Известно, что ПАФ вызывает активацию гуморального и клеточного иммунитета и хроническое воспаление [15]. Поэтому введение ПАФ животным перед наступлением беременности способно вызывать АМИ, и полученные нами результаты нарушения соматического и сенсомоторного развития мышцей после рождения, вероятно, связаны с такой активацией иммунитета. Выявленное негативное действие ПАФ на соматическое развитие характеризовалось отставанием в наборе массы тела, замедлением формирования шерсти, прорезывания резцов, расхождения пальцев, открытия глаз. Отставание массы тела потомства иммунизированных самок мышей возникало в конце гнездового периода, что согласуется с данными по снижению массы тела у детенышей крыс, перенесших АМИ, вызванную введением Poly (I:C) во время беременности [16]. Клинические исследования также выявили взаимосвязь между перенесенной матерью инфекцией (грипп) во время беременности и отставанием в росте у их детей [17].

Возможными причинами замедления соматического созревания у потомства животных, иммунизированных ПАФ, могут быть различные факторы, вызванные иммунным ответом. Известно, что АМИ вызывает патологические воспалительные состояния плаценты [18], что может приводить к пренатальной гипоксии [19], снижению доступности незаменимых аминокислот [19] и являться одной из причин задержки соматического созревания в постнатальном онтогенезе [20]. Возникновение плацентарной недостаточности при АМИ обусловлено повышенной продукцией провоспалительных цитокинов [18], выработка которых, как известно, стимулируется введением ПАФ [21]. Взаимосвязь между воздействием ПАФ во время беременности с плацентарными нарушениями и задержкой соматического развития потомства предстоит еще изучить, особенно учитывая, что плод значительно устойчивее к гипоксии, чем взрослый организм [19].

Другими факторами, которые влияют на соматическое развитие потомства, могли быть нарушения развития внутренних органов, связанных с АМИ. Установлено, что введение ЛПС крысам во время беременности приводит к прогрессирующему воспалению легких у новорожденных крысят, измене-

нию экспрессии генов, регулирующих альвеологенез, и задержке морфологического созревания легких [22]. Воспаление легких в неонатальном периоде у мышей вызывает отставание в наборе массы тела начиная со 2-й недели постнатального развития [23], что аналогично нарушениям, наблюдаемым в нашем исследовании. Воздействие ПАФ на развитие легких, может быть более выражено, чем влияние ЛПС из-за специфических патоген-ассоциированных молекулярных образцов микобактерий. Известно, что введение ПАФ молодым крысам вызывает гранулематозное воспаление легких [24].

Выявленные отставания соматического развития в постнатальном периоде могут быть также связаны с нарушением формирования микробиоты и развития кишечника у животных в результате АМИ [25]. Известно, что ПАФ вызывает изменение общих микробных профилей и численности отдельных микроорганизмов в кишечнике мышцей [26]. Дизбиоз у самок мышцей во время беременности влияет на формирование микробиоты потомства [27]. Изменение постнатальной кишечной микрофлоры оказывает существенное воздействие на рост и функции кишечника [28]. Кроме того, АМИ у крыс способствует недоразвитию сосудистой системы кишечника и его воспалению [29].

Пренатальное воздействие ПАФ на соматическое развитие мышцей в раннем онтогенезе за счет индукции воспаления, нарушений в формировании внутренних органов и дисбиоза кишечника представляет интерес для будущих исследований.

В проведенной работе сенсомоторные нарушения были выявлены в течение всего гнездового периода. Формирование сложных моторных координаций в возрасте 2-3 нед происходило с более сильным отставанием, чем созревание простых двигательных ответов в течение 1-й нед постнатального развития. Сенсомоторные дисфункции в раннем постнатальном онтогенезе — известное осложнение при нарушении развития мозга, вызванного токсичным воздействием или гипоксией в пренатальном периоде [14, 30]. У потомства грызунов, которые подвергались АМИ, также возникают двигательные нарушения, но они описаны для более позднего подросткового возраста, характеризуются отставанием в формировании координации движений на вращающемся цилиндре и связаны с нарушениями формирования мозжечка [31].

Полученные нами результаты показали, что введение ПАФ до наступления беременности у мышцей, вызывало значительные отставания в формировании

сенсомоторных координаций в первые 3 нед после рождения. Эти результаты дополняют данные литературы по влиянию АМИ на созревание моторных форм поведения. Причинами выявленных нами задержек формирования сенсомоторных координаций, вероятно, являются нарушения получения и обработки сенсорной информации, планирования движений, эфферентного контроля движений, которые могут быть обусловлены нарушениями в различных областях головного мозга (соматосенсорной, моторной, ассоциативных), базальных ганглиях, таламусе, кортико-спинальных волокнах [32].

Отставания в развитии способности удержаться на сетке и спуститься по канату частично могли быть связаны с задержкой соматического развития, поскольку реализация поведения в этих тестах зависит от мышечной силы животных.

Характер выявленных нами нарушений согласуется с задержкой формирования координации движений, которые возникают при пренатальной и неонатальной гипоксии у грызунов [33] и связаны с нарушениями в моторной, сенсомоторной, зрительной, слуховой областях коры [33]. В нашем исследовании задержки развития компенсировались к 20-дневному возрасту, когда у мышей формируется большинство сенсомоторных координаций и двигательных навыков, характерных для взрослых животных. Предполагается, что нарушения в координации движений у животных, полученных от самок с введением ПАФ, будут возникать в более взрослом возрасте при реализации сложных двигательных задач.

Заключение

В результате проведенного исследования были выявлены значительные отставания в соматическом созревании и сенсомоторном развитии потомства мышей, иммунизированных ПАФ до наступления беременности и, вероятно, обусловленные активацией материнского иммунитета. Полученные результаты дополнили имеющиеся данные о влиянии АМИ на развитие поведения и когнитивных способностей у грызунов в ювенильном периоде развития. Выявленные задержки в развитии животных, вызванных пренатальным воздействием ПАФ необходимо учитывать при моделировании аутоиммунных процессов у животных с использованием адьювантов. Изучение влияния ПАФ на активацию материнского иммунитета, и механизмы такого воздействия на постнатальное развитие мышей представляют интерес для дальнейших исследований.

Литература

(п.п. 1-13; 15-18; 20-32 см. References)

14. Лобанов А.В., Хохлова О.Н., Зарайская И.Ю., Мурашев А.Н. Особенности соматического созревания и сенсомоторного развития у мышей в раннем онтогенезе при пренатальном воздействии цитозинарабинозы. *Журн. высш. нерв. деят.* 2008; 58(1): 98-110.
19. Тюлкова Е.И. Различные экспериментальные модели в изучении влияния пренатальной гипоксии на развитие мозга. *Интегративная физиология.* 2022; 3(4): 432-54.
33. Отеллин В.А., Хожай Л.И., Ватаева Л.А. Влияние гипоксии в раннем перинатальном онтогенезе на поведение и структурные характеристики мозга крысы. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 2012; 48(5): 467-73.

References

1. Stills H.F. Jr. Adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants. *ILAR J.* 2005; 46(3): 280-93.
2. Jones K.L., Pride M.C., Edmiston E., Yang M., Silverman J.L., Crawley J.N., et al. Autism-specific maternal autoantibodies produce behavioral abnormalities in an endogenous antigen-driven mouse model of autism. *Mol Psychiatry.* 2020; 25(11): 2994-3009.
3. Billiau A., Matthys P. Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *J Leukoc Biol.* 2001; 70(6): 849-60.
4. Mortaz E., Adcock I.M., Tabarsi P., Masjedi M.R., Mansouri D., Velayati A.A., et al. Interaction of Pattern Recognition Receptors with Mycobacterium Tuberculosis. *J Clin Immunol.* 2015; 35(1): 1-10.
5. Rusznak K., Horvath A.I., Pohli-Toth K., Futacs A., Kemeny A., Kiss G., et al. Experimental Arthritis Inhibits Adult Hippocampal Neurogenesis in Mice. *Cells.* 2022; 11(5):791.
6. Smolders S., Notter T., Smolders S.T., Rigo J.M., Brone B. Controversies and prospects about microglia in maternal immune activation models for neurodevelopmental disorders. *Brain Behav Immun.* 2018; 73: 51-65.
7. Zawadzka A., Cieslik M., Adamczyk A. The Role of Maternal Immune Activation in the Pathogenesis of Autism: A Review of the Evidence, Proposed Mechanisms and Implications for Treatment. *Int JMol Sci.* 202; 22(21): 11516.
8. Cordeiro C.N., Tsimis M., Burd I. Infections and Brain Development. *Obstet Gynecol Surv.* 2015; 70(10): 644-55.
9. Prinz M., Jung S., Priller J. Microglia Biology: One Century of Evolving Concepts. *Cell.* 2019; 179(2): 292-311.
10. Arcuri C., Mecca C., Bianchi R., Giambanco I., Donato R. The Pathophysiological Role of Microglia in Dynamic Surveillance, Phagocytosis and Structural Remodeling of the Developing CN S. *Front Mol Neurosci.* 2017; 10: 191.
11. Pangrazzi L., Balasco L., Bozzi Y. Oxidative Stress and Immune System Dysfunction in Autism Spectrum Disorders. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(9): 3293.
12. Solek C.M., Farooqi N., Verly M., Lim T.K., Ruthazer E.S. Maternal immune activation in neurodevelopmental disorders. *Dev Dyn.* 2018; 247(4): 588-619.
13. Baines K.J., Hillier D.M., Haddad F.L., Rajakumar N., Schmid S., Renaud S.J. Maternal immune activation alters fetal brain development and enhances proliferation of neural precursor cells in rats. *Front Immunol.* 2020; 11: 1145.

14. Lobanov A.V., Khokhlova O.N., Zaraiskaia I.Yu., Murashev A.N. Somatic maturation and sensorimotor development of C57BL/6 mice prenatally exposed to cytosine arabinoside. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti im. I.P. Pavlova*. 2008; 58(1): 98-110. (in Russian)
15. Kubota M., Iizasa E., Chuuma Y., Kiyohara H., Hara H., Yoshida H. Adjuvant activity of *Mycobacteria*-derived mycolic acids. *Heliyon*. 2020; 6(5): e04064.
16. Murray K.N., Edey M.E., Manca M., Vernon A.C., Oladipo J.M., Fasolino V., et al. Evolution of a maternal immune activation (mIA) model in rats: Early developmental effects. *Brain Behav Immun*. 2019; 75: 48-59.
17. Ogasawara K. The long-run effects of pandemic influenza on the development of children from elite backgrounds: Evidence from industrializing Japan. *Econ Hum Biol*. 2018; 31: 125-37.
18. Yan X., Managlia E., Tan X.D., De Plaen I.G. Prenatal inflammation impairs intestinal microvascular development through a TNF-dependent mechanism and predisposes newborn mice to necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2019; 317(1): G57-G66.
19. Tyulkova E.I. Various experimental models in studying the effect of prenatal hypoxia on brain development. *Integrativnaya fiziologiya*. 2022; 3(4): 432-54. (in Russian)
20. Piesova M., Koprdoва M., Ujhazy E., Krskova L., Olexova L., Morova M., et al. Impact of prenatal hypoxia on the development and behavior of the rat offspring. *Physiol Res*. 2020; 69(4): S649-S659.
21. Zhao Y., Chen Y., Wang Z., Peng C., Li Q., Wu J., et al. The method of Yiqi Yangyin Tongluo can attenuate the pyroptosis of rheumatoid arthritis chondrocytes through the ASIC1a/NLRP3 signaling pathway. *Ann Transl Med*. 2022; 10(3): 145.
22. Cao L., Wang J., Tseu I., Luo D. Maternal exposure to endotoxin delays alveolarization during postnatal rat lung development. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2009; 296(5): L726-37.
23. You Y., Guo C., Zhang H., Deng S., Tang J., Xu L., et al. Effect of intranasal instillation of lipopolysaccharide on lung development and its related mechanism in newborn mice. *J Interferon Cytokine Res*. 2019; 39(11): 684-93.
24. Malengier-Devlies B., Decaestecker T., Dekoster K., Vanstapel A., Ahmadzadeh K., Poosti F., et al. Lung functioning and inflammation in a mouse model of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Front Immunol*. 2021; 12: 642778.
25. Tadros J.S., Llerena A., Sarkar A., Johnson R., Miller E.M., Gray H.L., et al. Postnatal growth and gut microbiota development influenced early childhood growth in preterm infants. *Front Pediatr*. 2022; 10: 850629.
26. Khadka S., Omura S., Sato F., Tsunoda I. Adjuvant Injections Altered the Ileal and Fecal Microbiota Differently with Changes in Immunoglobulin Isotypes and Antimycobacterial Antibody Responses. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(3): 2818.
27. Zhang Z., Xue C., Ju M., Guo J., Wang M., Yi S., Yi X. Maternal Gut Dysbiosis Alters Offspring Microbiota and Social Interactions. *Microorganisms*. 2021; 9(8): 1742.
28. Fak F., Ahrne S., Molin G., Jeppsson B., Westrom B. Microbial manipulation of the rat dam changes bacterial colonization and alters properties of the gut in her offspring. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008; 294(1): G148-54.
29. Yan X., Managlia E., Tan X.D., De Plaen I.G. Prenatal inflammation impairs intestinal microvascular development through a TNF-dependent mechanism and predisposes newborn mice to necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2019; 317(1): G57-G66.
30. Girard S., Kadhim H., Beaudet N., Sarret P., Sebire G. Developmental motor deficits induced by combined fetal exposure to lipopolysaccharide and early neonatal hypoxia/ischemia: a novel animal model for cerebral palsy in very premature infants. *Neuroscience*. 2009; 158(2): 673-82.
31. Aavani T., Rana S.A., Hawkes R., Pittman Q.J. Maternal immune activation produces cerebellar hyperplasia and alterations in motor and social behaviors in male and female mice. *Cerebellum*. 2015; 14(5): 491-505.
32. Bayer S.A., Altman J. *Neocortical development*. New York: Raven Press 1991.
33. Otellin V.A., Khozhay L.I., Vataeva L.A. The influence of hypoxia in early perinatal ontogenesis on the behavior and structural characteristics of the rat brain. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii*. 2012; 48(5): 467-73. (in Russian)

Сведения об авторах:

Лобанов Александр Владимирович, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ НИИОПП;

Захарова Ирина Александровна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., ФГБНУ НИИОПП;

Лобанова Наталья Николаевна, науч. сотр. научно-аналитического отдела ФГБНУ НИИОПП;

Морозов Сергей Георгиевич, доктор мед. наук, член-корр. РАН, директор ФГБНУ НИИОПП.