

УДК 891.1

ЗАВИСИМОСТЬ УРОВНЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА ПЛАЗМЫ КРОВИ САМЦОВ КРЫС ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА

Ольга Николаевна Кулешова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Астраханский государственный университет, Российская Федерация, 414000, г. Астрахань, пл. Шаумяна, 1, pozdniakova_olga@list.ru

Изучали эффекты иммобилизационного пренатального стресса разной продолжительности на свободнорадикальный гомеостаз плазмы крови. Исследование проводилось на половозрелых беспородных белых крысах-самцах, матери которых с 16 по 19 дни беременности подвергались иммобилизационному стрессу 1, 2 и 3 ч в сутки. В плазме крови определяли уровень ПОЛ, ОМБ, АОА, ЦП, активность СОД. В плазме самцов крыс, перенесших часовую пренатальную иммобилизацию, отмечено увеличение процента общей антиокислительной активности ($p < 0,05$). Двухчасовая пренатальная иммобилизация привела к росту уровня промежуточных продуктов окисления липидов ($p < 0,01$) и АОА ($p < 0,05$). Трёхчасовая пренатальная иммобилизация привела к изменению всех рассмотренных параметров, характеризующих окислительный гомеостаз: отмечен рост уровня промежуточных ($p < 0,01$) и конечных продуктов ПОЛ ($p < 0,05$), рост уровня продуктов свободнорадикальной модификации белков ($p < 0,05$), рост общей антиокислительной активности ($p < 0,01$) и ЦП ($p < 0,01$), снижение активности СОД ($p < 0,01$). Таким образом, уровень сдвигов СР гомеостаза в плазме крови пренатально стрессированных самцов крыс напрямую зависит от длительности пренатального воздействия, оказанного на животных, а наиболее чувствительным параметром из рассмотренных нами является уровень общей АОА.

Ключевые слова: окислительная модификация белков, супероксиддисмутаза, свободнорадикальный гомеостаз, антиокислительная активность, пренатальный стресс, крысы самцы, плазма

DEPENDING THE LEVEL OF FREE-RADICAL HOMEOSTASIS OF BLOOD PLASMA IN MALE RATS ON THE DURATION OF PRENATAL STRESS

Kuleshova Olga Nikolaevna, Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher, Astrakhan State University, 1 Shaumyana Sq., Astrakhan, 414000, Russian Federation, pozdniakova_olga@list.ru

The effects of immobilization prenatal stress of different duration on free radical homeostasis of blood plasma were studied. The study was conducted on sexually mature mongrel white male rats, whose mothers were subjected to immobilization stress 1, 2 and 3 hours a day

from the 16th to the 19th days of pregnancy. In the blood plasma, the level of POL, OMB, AOA, CP, and SOD activity were examined. It was found that in the plasma of male rats that underwent 1-hour prenatal immobilization, an increase in the percentage of total antioxidant activity was noted ($p < 0.05$). 2-hour prenatal immobilization led to an increase in the level of intermediate products of lipid oxidation ($p < 0.01$) and AOA ($p < 0.05$). 3-hour prenatal immobilization led to a change in all the considered parameters characterizing oxidative homeostasis: an increase in the level of intermediate ($p < 0.01$) and final products of POL ($p < 0.05$), an increase in the level of products of free radical modification of proteins ($p < 0.05$), an increase in total antioxidant activity ($p < 0.01$) and CPU ($p < 0.01$), decrease in SOD activity ($p < 0.01$). Thus, the level of shifts in CP homeostasis in the blood plasma of prenatally stressed male rats directly depends on the duration of prenatal exposure to animals, and the most sensitive parameter, of those considered by us, is the level of total AOA.

Keywords: *oxidative modification of proteins, superoxide dismutase, free radical homeostasis, antioxidant activity, prenatal stress, male rats, plasma*

Введение

К настоящему времени разнообразные исследования создали убедительную концепцию «пренатального программирования» – идею о том, что изменения условий развития на ранних этапах формирования могут подготовить почву для хронических заболеваний в период постнатального онтогенеза. Воздействие на мать различных стрессоров влияет на рост и морфологию плаценты [14], метаболизм и эндокринную функцию [8], эпигенетический профиль [10] – характеристики, которые были связаны с заболеванием плода [11]. В ответ на неблагоприятные условия, перенесённые матерью, у плода формируются изменения на клеточном, метаболическом, гормональном и эпигенетическом уровнях. С последствиями перенесённого пренатального стресса связывают рост психопатологий и нервных заболеваний в последние десятилетия [13; 7; 12]. Пренатальный стресс, вызывая смещение про- и антиоксидантного равновесия в сторону повышения уровня активных форм кислорода (АФК) и способствуя развитию окислительного стресса (ОС), приводит к эпигенетическим изменениям у развивающегося организма. Кроме того, изменение редокс-равновесия в эмбриогенезе влияет на процессы про- и антиоксидантного равновесия во взрослом организме.

Окислительно-восстановительные процессы определяют практически все фундаментальные процессы жизни – от биоэнергетики до метаболизма и жизненных функций, они многообразны и организованы в соответствии с принципами редокс-кода, связаны с патогенезом нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, метаболических и других заболеваний, выявляют дисбаланс между про- и антиоксидантной системой. Учитывая это, они могут являться чувствительным маркером развития нарушений у взрослого потомства стрессированных самок. Так как эффекты стресса являются во многом дозозависимыми, в значительной степени изменяются от продолжительности и характера оказываемого воздействия, то возникла необходимость уточнить эффекты пренатального стресса разной продолжительности на свободнорадикальный гомеостаз плазмы крови – общеорганизменного уровня стресс-нагрузки.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на беспородных белых крысах-самках в возрасте 6–8 месяцев и их потомстве в возрасте 90 дней (75 самцов). У самок определяли стадии эстрального цикла стандартным методом анализа влажгалищного мазка. При обнаружении эструса или проэструса к самке подсаживали самца, и первым днём беременности считали день обнаружения в мазке сперматозоидов. Далее самок делили на две группы:

1) самки группы стресса с 16-го по 19-й дни беременности подвергались иммобилизационному стрессу (ИМО) в пластиковых пеналах, ограничивающих двигательную активность, на протяжении одного, двух или трёх часов;

2) самки контрольной группы негативным влияниям не подвергались.

На 90-й день постнатального онтогенеза половозрелых пренатально-стрессированных и контрольных самцов – потомков стрессированных и контрольных самок – наркотизировали этиминалом натрия и декапитировали. Кровь собирали в гепаранизированные пробирки, центрифугировали, плазму для оценки уровня окислительного гомеостаза отбирали и замораживали при минус 20 °С. Все методики были проведены не позднее двух недель с момента выделения ткани. Исследования во всех сериях проводили в осенне-зимний период, животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении и синхронизированы по питанию при свободном доступе к воде. При уходе за животными и их умерщвлении были соблюдены принципы декларации Европейского сообщества о животных (86/609/БЕС), используемых в экспериментах, а также других научных целей.

Антиоксидантную защиту оценивали по уровню общей антиоксидантной активности [4], активности основного фермента антиоксидантной активности – супероксиддисмутазы (СОД) [5], определяли уровень церулоплазмина (ЦП) [6]. Уровень свободнорадикального окисления определяли по уровню продуктов перекисного окисления липидов – уровню промежуточного продукта (малонового диальдегида, МДА) [9] и конечных продуктов ПОЛ (оснований Шиффа [1]); уровень окислительной модификации белковых молекул (ОМБ) – по уровню производных карбонильных групп [3]. Перерасчёт активности СОД и ОМБ производили на грамм белка, уровень которых определяли по методу Лоури. Пробы спектрофотометрировали на цифровом UV-спектрофотометре PD-303UV (Arel, Япония). Статистическая обработка полученных результатов производилась с применением U непараметрического критерия Манна – Уитни, достоверность оценивали по таблице критических значений для уровней статистической значимости $p < 0,05$, $p < 0,01$ [2] Данные представлены в виде среднего значения \pm его стандартной ошибки.

Результаты исследования и их обсуждение

Часовая пренатальная иммобилизация не оказала существенного влияния на параметры, характеризующие окислительный гомеостаз, в плазме половозрелых животных. Не изменились показатели, характеризующие уровень окислительных процессов белков и липидов, остались без изменения уровень

активность СОД и концентрация церулоплазмينا в плазме пренатально стрессированных самцов крыс. Значительно увеличился только процент общей антиокислительной активности (АОА; табл. 1).

Таблица 1

Уровень окислительного стресса в плазме пренатально стрессированных (часовая ИМО) половозрелых самцов

Группы	МДА, ммоль/л	ОМБ (370 нм) у.е./мг белка	АОА, %	СОД, усл. ед./мин.*мг белка	ЦП, у.е.	Основания Шиффа
Контроль, n = 11	1,91 ± 0,508	1,84 ± 0,141	34,25 ± 0,976	8,86 ± 0,960	0,58 ± 0,013	0,009 ± 0,0005
Стресс, n = 11	1,50 ± 0,133	2,45 ± 0,467	35,47 ± 1,250*	7,78 ± 0,508	0,61 ± 0,014	0,009 ± 0,0009

Примечание: достоверные различия между контрольными и опытными животными (критерий Манна – Уитни) обозначены для уровней статистической значимости: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (по Е. В. Гублеру и А. А. Генкину, 1973 г.).

Двухчасовая пренатальная иммобилизация привела к изменению ряда из рассмотренных параметров, характеризующих окислительный гомеостаз: отмечен рост уровня промежуточных продуктов окисления липидов ($p < 0,01$) и общей антиокислительной активности ($p < 0,05$). При этом на уровень активности СОД, ЦП и уровень ОМБ молекул двухчасовая пренатальная иммобилизация не оказала эффекта.

Таблица 2

Уровень окислительного стресса в плазме пренатально стрессированных (двухчасовая ИМО) половозрелых самцов

Группы	МДА, ммоль/л	ОМБ (370 нм) у.е./мг белка	АОА, %	СОД, усл. ед./мин.*мг белка	ЦП ед. оп. пл.	Основания Шиффа, ед. инд. окисления
Контроль, n = 10	2,08 ± 0,074	47,76 ± 3,314	25,00 ± 1,747	7,76 ± 0,569	0,42 ± 0,018	0,007 ± 0,008
Стресс, n = 11	2,80 ± 0,114**	53,24 ± 7,885	35,48 ± 3,719*	5,36 ± 0,347	0,39 ± 0,003	0,007 ± 0,005

Примечание: достоверные различия между контрольными и опытными животными (критерий Манна – Уитни) обозначены для уровней статистической значимости: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (по Е. В. Гублеру и А. А. Генкину, 1973).

Трёхчасовая пренатальная иммобилизация привела к изменению всех рассмотренных параметров, характеризующих окислительный гомеостаз: отмечен рост уровня промежуточных ($p < 0,01$) и конечных продуктов ПОЛ ($p < 0,05$), рост уровня продуктов свободнорадикальной деструкции белков ($p < 0,05$), рост общей антиокислительной активности ($p < 0,01$) и активности ЦП ($p < 0,01$), снижение активности СОД ($p < 0,01$).

Свободнорадикальное равновесие оказывает значительное влияние на широкий спектр биологических и молекулярных процессов. Когда баланс смещается в сторону повышенного количества свободных радикалов, могут возникать патологические явления, вызванные появлением АФК,

образующихся главным образом в результате процессов окислительного фосфорилирования и аэробного метаболизма. АФК также образуются в значительных количествах и в результате реакций, катализируемых ферментами оксидоредуктазы, неферментативных реакций, катализируемых эндогенными ионами металлов, а также нейтрофилами и макрофагами с помощью НАДФН-оксидазы.

Таблица 3

Уровень окислительного стресса в плазме пренатально стрессированных (3-часовая ИМО) половозрелых самцов

Группы	МДА, ммоль/л	ОМБ (370 нм), у.е./мг белка	АОА, %	СОД, усл. ед./мин.*мг белка	ЦП, ед. оп. пл.	Основания Шиффа ед. инд. окисления
Контроль, n = 12	2,47 ± 0,075	0,20 ± 0,020	47,91 ± 5,587	9,54 ± 0,820	0,56 ± 0,014	0,05 ± 0,008
Стресс, n = 11	3,46 ± 0,176**	0,29 ± 0,035*	73,63 ± 4,713**	6,60 ± 0,197**	0,63 ± 0,006**	0,08 ± 0,011*

Примечание: достоверные различия между контрольными и опытными животными (критерий Манна – Уитни) обозначены для уровней статистической значимости: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (по Е. В. Гублеру и А. А. Генкину, 1973).

Свободные радикалы участвуют в поддержании гомеостаза, аккумуляции и биотрансформации энергии, обеспечивают защитные функции, в частности, детоксикацию чужеродных соединений, обладают микробиоцидными свойствами, влияют на иммунитет и т. д. Одновременно избыточное образование АФК может привести к повреждению клеток в виде ПОЛ, обратимого или необратимого изменения структуры белка и повреждения ДНК, что может значительно изменять функциональное состояние клеток.

Материнский стресс привёл к существенному изменению базового уровня свободнорадикального гомеостаза в плазме крови их половозрелых потомков. Из рассмотренных параметров свободнорадикального гомеостаза наиболее чувствительным, первым изменившимся под влиянием пренатального воздействия наименьшей из изученных продолжительности (часовая ИМО) оказался уровень общей АОА. Уровни активности СОД и ЦП при этом остались неизменными, вероятно, рост мощности антиоксидантного пула происходил за счёт других её компонентов.

Антиоксидантная система представлена ферментативным звеном (СОД, каталаза, система глутатионпероксидаза-глутатионредуктаза), неферментативным (жирорастворимые – токоферол, полифенолы, убихинол, тканевые липиды, витамины К, А, водорастворимые – аскорбиновая кислота, мочевины, глутатион, цистеин, никотинамид, бензойная кислота) и веществами, потенцирующими действие других антиоксидантов (аскорбиновая, глутаминовая и лимонная кислоты). Ключевым вопросом в понимании регуляции антиокислительной системы является её соотношение с уровнем ПОЛ, регуляция интенсивности свободных радикальных процессов антиоксидантной системой происходит по принципу отрицательной обратной связи.

В нашем эксперименте увеличение АОА шло в соответствии с увеличением стресс-нагрузки, которую перенесли в пренатальный период самцы крыс: на 3,5 % на фоне часовой пренатальной ИМО, на 42 % – на фоне двухчасовой пренатальной ИМО и на 52,6 % после трёхчасовой пренатальной ИМО. С увеличением длительности пренатальной иммобилизации растёт и степень свободнорадикальной деструкции липидных и белковых молекул ткани.

Двухчасовая пренатальная ИМО привела к увеличению уровня ПП ПОЛ – МДА ($p < 0,01$), одновременно конечные продукты ПОЛ – основания Шиффа – остались на уровне контрольной группы. Можно предположить, что увеличения уровня общей АОА на 42 % оказалось достаточно, чтобы купировать дальнейшее развитие процессов СРО липидных структур.

Наиболее выраженный эффект на свободнорадикальный баланс плазмы крови пренатально стрессированных самцов крыс оказал наиболее продолжительный иммобилизационный стресс матери. В результате трёхчасовой пренатальной ИМО было отмечено увеличение продуктов ПОЛ и ОМБ, снижение активности СОД и рост общей АОА и уровня ЦП.

Супероксиддисмутаза является универсальными ферментами организмов, которые живут в присутствии кислорода. Они катализируют превращение супероксида в кислород и перекись водорода. Благодаря своей активности ферменты СОД контролируют уровни различных активных форм кислорода и активных форм азота, тем самым ограничивая потенциальную токсичность этих молекул и контролируя широкие аспекты клеточной жизни, которые регулируются их сигнальными функциями. Известно, что СОД – ключевой фермент в защите белков от окислительной модификации. Снижение его активности у пренатально стрессированных самцов может быть ассоциировано не только со смещением свободнорадикального гомеостаза в сторону усиления окислительных деструктивных процессов, но и с ростом вероятности проявления различных заболеваний, связанных с таким дисбалансом.

Вероятно, более значительный стресс в пренатальный период вызвал более интенсивный ответ со стороны гормональной системы матери. Через увеличение уровня катехоламинов, оказавшимся достаточным для снижения собственной антиоксидантной и барьерной функции плаценты, возмозжно, усилилась выработка свободных радикалов в организме плода. В период пренатального развития рост АКФ оказывает влияние на эпигенетическую регуляцию генов через модификацию метилирования ДНК, гистонов и микроРНК, что отражается на функционировании организма на протяжении дальнейшего постнатального онтогенеза. Характер такого «пренатального программирования» напрямую связан с продолжительностью пренатального воздействия.

Таким образом, уровень сдвигов СР гомеостаза в плазме крови пренатально стрессированных самцов крыс напрямую зависит от длительности пренатального воздействия, оказанного на животных, а наиболее чувствительным параметром из рассмотренных нами является уровень общей АОА.

Список литературы

1. Волчегорский, И. А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И. А. Волчегорский, А. Г. Налимов, Б. Г. Яровинский и соавт. // Вопросы медицинской химии. – 1989. – Т. 35, № 3. – С. 127–131.
2. Гублер, Е. В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е. В. Гублер, А. А. Генкин. – Ленинград : Медицина, 1973. – 144 с.
3. Дубинина, Е. Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов, И. Г. Поротов // Вопросы медицинской химии. – 1999. – Т. 45, № 1. – С. 47–54.
4. Клебанов, Г. И. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин, О. С. Комаров и соавт. // Лабораторное дело. – 1988. – № 5. – С. 59–62.
5. Сирота, Т. В. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности СОД / Т. В. Сирота // Биомедицинская химия. – 2013. – Т. 59, № 4. – С. 399–410.
6. Тен, Э. В. Экспресс-метод определения активности церулоплазмينا в сыворотке крови / Э. В. Тен // Лабораторное дело. – 1981. – № 6. – С. 334–335.
7. Frances, M. Systematic Review and Meta-Analysis Investigating the Relationship between Exposures to Chemical and Non-Chemical Stressors during Prenatal Development and Childhood Externalizing Behaviors / M. Frances, J. Frank, N. S. Tulve // Int. J. Environ Res. Public Health. – 2020. – Vol. 17, № 7. – P. 23–61.
8. Howerton, C. L. O-GlcNAc transferase (OGT) as a placental biomarker of maternal stress and reprogramming of CNS gene transcription in development / C. L. Howerton, C. P. Morgan, D. B. Fischer, T. L. Bale // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2013. – Vol. 110. – P. 5169–5174.
9. Mihara, M. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and vitamin E deficiency / M. Mihara // Biochemical medicine. – 1980. – Vol. 23. – P. 302–311.
10. Palma-Gudiel, H. The impact of prenatal insults on the human placental epigenome: a systematic review / H. Palma-Gudiel, F. Cirera, F. Crispi et al. // Neurotoxicol. Teratol. – 2018. – Vol. 66. – P. 80–93.
11. Perez-Garcia, V. Placentation defects are highly prevalent in embryonic lethal mouse mutants / V. Perez-Garcia, E. Fineberg, R. Wilson et al. // Nature. – 2018. – Vol. 555. – P. 463–468.
12. Qian, Zhou. Effects of Maternal Chewing on Prenatal Stress-Induced Cognitive Impairments in the Offspring via Multiple Molecular Pathways / Qian Zhou, Ayumi Suzuki, Mitsuo Iinuma et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21, № 16. – P. 56–27.
13. Rakers, F. Transfer of maternal psychosocial stress to the fetus / F. Rakers, S. Rupperecht, M. Dreiling et al. // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2020. – Vol. 117. – P. 185–197.
14. Walker, C. K. Trophoblast inclusions are significantly increased in the placentas of children in families at risk for autism / C. K. Walker, K. W. Anderson, K. M. Milano et al. // Biol. Psychiatr. – 2013. – Vol. 74. – P. 204–211.

References

1. Volchegorskiy, I. A., Nalimov A. G., Yarovinskiy B. G. et al. Sopotavlenie razlichnykh podkhodov k opredeleniyu produktov perekisnogo okisleniya lipidov v heptan-izopropanolnykh ekstraktakh krovi [Comparison of various approaches to the definition of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol blood extracts]. *Voprosy meditsinskoj khimii* [Questions of medical chemistry], 1989, vol. 35, no. 3, pp. 127–131.

2. Gubler, E. V., Genkin A. A. *Primenenie neparametricheskikh kriteriev statistiki v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh* [Application of non-parametric statistics criteria in biomedical research]. Leningrad, Meditsina Publ. House, 1973, 144 p.

3. Dubinina, Ye. Ye., Burmistrov S. O., Khodov D. A., Porotov I. G. Okislitel'naya modifikatsiya belkov syvorotki krovi cheloveka, metod ee opredeleniya [Oxidative modification of human blood serum proteins, method of determining it]. *Voprosy meditsinskoj khimii* [Questions of medical chemistry], 1999, vol. 45, no. 1, pp. 47–54.

4. Klebanov, G. I., Babenkova I. V., Teselkin Yu. O., Komarov O. S. et al. Otsenka antiokislitel'noy aktivnosti plazmy krovi s primeneniem zheltochnykh lipoproteidov [Evaluation of the antioxidative activity of blood plasma with the use of yolk lipoproteins]. *Laboratornoe delo* [Laboratory business], 1988, no. 5, pp. 59–62.

5. Sirota, T. V. Ispolzovanie nitrosinogo tetrazoliya v reaktsii avtookisleniya adrenalina dlya opredeleniya aktivnosti SOD [The use of nitrosine tetrazolia in the adrenaline auto-oxidation reaction to determine the activity of SOD]. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical Chemistry], 2013, vol. 59, no. 4, pp. 399–410.

6. Ten, E.V. Ekspres-metod opredeleniya aktivnosti tseruloplazmina v syvorotke krovi [Express method for determining the activity of ceruloplasmin in serum]. *Laboratornoe delo* [Laboratory business], 1981, no. 6, pp. 334–335.

7. Frances, M., Frank J., Tulve N. S. Systematic Review and Meta-Analysis Investigating the Relationship between Exposures to Chemical and Non-Chemical Stressors during Prenatal Development and Childhood Externalizing Behaviors. *Int. J. Environ Res. Public Health*, 2020, vol 17, no. 7, pp. 23–61.

8. Howerton, C. L., Morgan C. P., Fischer D. B., Bale T. L. O-GlcNAc transferase (OGT) as a placental biomarker of maternal stress and reprogramming of CNS gene transcription in development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2013, vol. 110, pp. 5169–5174.

9. Mihara, M. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and vitamin E deficiency. *Biochemical medicine*, 1980, vol. 23, pp. 302–311.

10. Palma-Gudiel, H., Cirera F., Crispi F. et al. The impact of prenatal insults on the human placental epigenome: a systematic review. *Neurotoxicol. Teratol.*, 2018, vol. 66, pp. 80–93.

11. Perez-Garcia, V., Fineberg E., Wilson R. et al. Placentation defects are highly prevalent in embryonic lethal mouse mutants. *Nature*, 2018, vol. 555, pp. 463–468.

12. Qian, Zhou, Ayumi Suzuki, Mitsuo Iinuma et al. Effects of Maternal Chewing on Prenatal Stress-Induced Cognitive Impairments in the Offspring via Multiple Molecular Pathways. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, no. 16, pp. 56–27.

13. Rakers, F., Rupperecht S., Dreiling M. et al. Transfer of maternal psychosocial stress to the fetus. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2020, vol. 117, pp. 185–197.

14. Walker, C. K., Anderson K. W., Milano K. M. et al. Trophoblast inclusions are significantly increased in the placentas of children in families at risk for autism. *Biol. Psychiatr.*, 2013, vol. 74, pp. 204–211.