

Пубертатний стрес спричиняє статевоспецифічні репродуктивні ефекти у дорослих щурів

О.В. Сачинська, О.А. Фалюш, І.Г. Перчик, А.А. Лимарєва, О.Г. Резніков

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», Київ;
e-mail: 4310281@ukr.net

Підлітковий вік є одним із критичних періодів індивідуального розвитку, який дуже чутливий до змін, викликаних стресовими факторами. Порушення гормонального балансу, пов'язані зі стресом, можуть негативно вплинути на статеве дозрівання і репродуктивну функцію. Метою нашої роботи було вивчення віддалених репродуктивних ефектів хронічного пубертатного стресу у щурів. Тварин піддавали іммобілізаційному стресу щодня з 30-ї по 45-ту добу постнатального життя, поміщаючи їх у циліндри діаметром 4,5 см і довжиною 10 см, обладнані дихальними отворами. Досліджували терміни статевого дозрівання тварин, оцінювали їх соматичний розвиток. Подальші дослідження проводили на статевозрілих щурах віком 6 міс. Результати порівнювали з відповідними показниками у інтактних тварин. Пубертатний стрес затримував статеве дозрівання самиць і набір маси у самців. У дорослих тварин обох статей він не змінив вміст тестостерону, а також масу та морфологію гонад, за винятком незначної вакуолізації сперматогенного епітелію. Індекс сперматогенезу в дослідній групі був достовірно нижчим, ніж у контролі внаслідок зменшення кількості пізніх сперматид. Пубертатний стрес призвів до зниження кількості сперматозоїдів у епідимальних змивах на 25,9 % і збільшення кількості їх патологічних форм та уповільнення окисно-відновних процесів у сперматозоїдах у 2,4 раза. У сім'яниках і яєчниках збільшувався вміст малонового діальдегіду, що свідчить про активізацію перекисного окиснення ліпідів. Таким чином, хронічний пубертатний стрес призводив до зменшення репродуктивного потенціалу самців щурів. Самиці менш вразливі до негативного впливу пубертатного стресу.

Ключові слова: стрес; пубертат; щури; самці; самиці; репродуктивна система.

ВСТУП

Підлітковий вік є одним з найбільш динамічних періодів розвитку мозку та тіла після народження, поступаючись лише дитинству. Найвні дані свідчать про те, що цей період є особливо чутливим до змін, викликаних стресогенними чинниками, негативні наслідки яких можуть проявитись у дорослому житті у вигляді когнітивних, поведінкових, гормональних і репродуктивних розладів [1–3]. Так, у дівчат-підлітків підвищення кортикотропін-релізинг-гормону у відповідь на стрес пригнічує пульсацію гонадотропін-релізинг-гормону (ГнРГ), що призводить до функціональної гіпоталамічної аменореї [4]. У половини таких хворих виявляється синдром полікістозних яєчників [5]. Наслідками

спричиненої стресом гіперпролактинемії у дівчат можуть бути порушення менструальних циклів та гірсутизм, у юнаків – гінекомастія, недостатній розвиток вторинних статевих ознак тощо [6–8].

Враховуючи, що саме в цей період відбувається статеве дозрівання, порушення гормонального балансу, викликане різного роду стресами, може негативно позначитись на репродуктивній функції. Цьому сприяє той факт, що на початку статевого дозрівання реакція гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи (ГГАС) на стресові подразники у людей і тварин обох статей є значно вищою порівняно з такою у дорослому віці [9–13]. Експериментальні дані вказують на те, що вплив екзогенного кортикостерону

впродовж пубертату призводить до значних і залежних від статі соматичних і нейроендокринних змін, також продемонстровано порушення балансу гормонів гіпофіза та тестикул у самців-підлітків, що зазнали хронічного стресу [14–16]. Основну увагу дослідники стресового розладу у підлітків зосередили на проявах депресії та тривоги, стані когнітивних функцій, здібностях до навчання, симптомах агресивної та компульсивної поведінки. Аналіз наукових баз даних виявив незначну кількість досліджень стосовно віддалених репродуктивних наслідків хронічного підліткового стресу.

У патогенезі низки патологічних станів і хвороб важлива роль належить процесам перекисного окислення ліпідів. Пошкоджувальна дія продуктів перекисного окислення ліпідів є невід’ємною складовою стану дистресу, який виникає внаслідок надмірних змін гомеостазу, до яких організм не в змозі адаптуватися. Стан перекисного окиснення ліпідів у гонадах тварин, що зазнали хронічного пубертатного стресу, залишався не вивченим.

Нині в «історію хвороби» сучасних підлітків окрім стандартних видів стресу додається два роки стресу соціальної ізоляції, спричиненої COVID-19. А особливо складною є ситуація в нашій країні, оскільки внаслідок війни люди знаходяться в стані хронічного стресу граничної тяжкості. Насамперед важким фізичний і психоемоційний дистрес є для незрілого дитячого організму, зокрема, у ранньому підлітковому віці, коли розпочинається пубертатний період. Тому вкрай актуальним є дослідження віддалених негативних наслідків хронічного стресу, їх патогенезу для пошуку засобів профілактики.

Метою нашої роботи було виявлення віддалених репродуктивних наслідків стресу щурів пубертатного віку.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на щурах локального розпліднення з фіксованою датою народження,

яких утримували на стандартному харчовому раціоні і вільному доступі до води у віварії Інституту. Всі маніпуляції з тваринами відповідали положенням Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) і рекомендаціям Першого національного конгресу з питань біоетики (Київ, Україна, 20 вересня 2001 р.). Процедури з експериментальними тваринами схвалені комісією з біоетики Інституту (протокол № 43-КЕ від 06.06.2022 р.).

На 22-гу добу щурів відокремлювали від матерів і відбирали за статтю в окремі клітки, щоб тварини з різних послідів були як у контрольній, так і в експериментальній групах. Тварин піддавали стресу щодня в ранкові години з 30-ї по 45-ту добу, поміщаючи на 1 год у пластмасові циліндри діаметром 4,5 см і довжиною 10 см, обладнані дихальними отворами. Під час стресового періоду та після його закінчення реєстрували початок статевого дозрівання за опущенням сім’яників у калитку чи відкриттям піхви як у контрольних, так і в дослідних тварин, а також спостерігали за соматичним розвитком. Контрольні групи склалися з 35 самців та 26 самиць щурів. Стресу піддавали по 23 тварини кожної статі. Подальші дослідження проводили на статевозрілих щурах віком 6 міс, по 6-7 тварин у кожній групі.

Евтаназію тварин здійснювали швидкою декапітацією. Кров збирали у пробірки і відокремлювали сироватку, аліквоти якої зберігали при -18°C до проведення гормональних аналізів. У сироватці тварин визначали імуноферментним методом вміст тестостерону за допомогою наборів ELISA Testosterone (“LDN”, Німеччина) та імуноферментного аналізатора Stat Fax (США).

Статеві залози фіксували в рідині Буена та заливали в парафін для виготовлення гістологічних препаратів. Гістологічні зрізи товщиною від 5 до 6 мкм фарбували гематоксилін-еозином і вивчали за допомогою світлової мікроскопії. Визначення індексу

сперматогенезу передбачало використання чотирибальної системи, згідно з якою у поперечному зрізі сім'яного каналця аналізували наявність 4 шарів клітин сперматогенного епітелію, властивих нормальному процесу сперматогенезу [17].

Для аналізу сперматогенної функції сім'яників щурів та функціонального стану сперматозоїдів використовували суспензію сперматозоїдів. Її отримували дозованим (протягом 2 хв) вимиванням сперматозоїдів 0,9%-м розчином натрію хлориду (2 мл), яке проводили за допомогою активного перемішування рідини вздовж розрізаного придатка сім'яника. Концентрацію сперматозоїдів після 20-кратного розведення суспензії визначали у 5 великих квадратах камери Горяєва [18]. Виготовляли мазки суспензії сперматозоїдів для підрахунку відносної кількості нормальних і патологічних форм за допомогою світлового мікроскопа Leica DME ("Leica Microsystems", Німеччина).

Стан окисно-відновних процесів у сперматозоїдах визначали *in vitro* методом, який базується на реакції суспензії сперматозоїдів з 0,01% розчином метиленового синього [18]. Час знебарвлення суміші є обернено пропорційний кількості сперматозоїдів та інтенсивності окисно-відновних процесів у

них. У гомогенатах тканин гонад визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) [19].

Результати статистично опрацьовували за допомогою комп'ютерної програми Excel з використанням критерію t Стьюдента. Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною при значенні $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Хронічний стрес впродовж пубертатного періоду відтермінував статеве дозрівання самиць ($46,00 \pm 1,12$ порівняно з $42,85 \pm 0,94$ добою у контролі, $P < 0,05$), що узгоджується з даними інших авторів [20, 21]. У контрольних і стресованих самців терміни статевого дозрівання не відрізнялись ($31,35 \pm 0,29$ та $31,17 \pm 0,31$ доба відповідно).

Протягом періоду стресування тварини дослідної групи повільніше набирали масу, особливо самці. Водночас уже через 10 днів по закінченні стресування цей показник у самиць не відрізнявся від контролю (рис. 1). Отримані нами результати про негативний статево-специфічний вплив стресу впродовж пубертату на соматичний розвиток узгоджуються зі спостереженнями інших дослідників [14, 22].

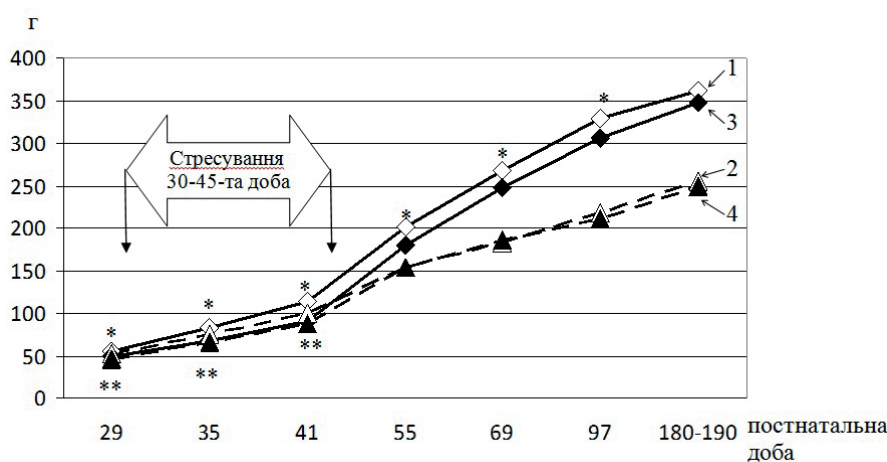


Рис. 1. Динаміка маси тіла контрольних і стресованих щурів. 1,2 – контроль (самці, самиці відповідно); 3, 4 – стрес (самці, самиці відповідно). *Вірогідність різниці між контрольними і стресованими самцями відповідного віку, **вірогідність різниці між контрольними і стресованими самицями відповідного віку

Маса тіла та органів репродуктивної системи не відрізнялась у 6-місячних тварин обох статей. Вміст тестостерону в сироватці контрольних і дослідних самців становив $15,08 \pm 2,03$ та $16,98 \pm 2,66$ нмоль/л відповідно ($P > 0,05$), а самиць – $1,32 \pm 0,17$ та $1,12 \pm 0,06$ нмоль/л ($P > 0,05$).

Морфологічна будова сім'яників дорослих щурів, які зазнали пубертатного стресу, не відрізнялася від контрольної групи, за винятком незначної вакуолізації сперматогенного епітелію (рис. 2, б).

Індекс сперматогенезу, який віддзеркалює співвідношення різних типів клітин сперматогенного епітелію, у тварин дослідної групи був нижчим, ніж у контролі внаслідок зменшення кількості пізніх сперматид ($3,413 \pm$

$0,023$ та $3,511 \pm 0,020$ відповідно, $P < 0,01$). Наші результати дослідження частково збігаються з даним Almeida та співавт. [23], які також відмічають зменшення кількості зрілих сперматид у гонадах на 16% за дещо іншої моделі стресу. Ribeiro та співавт. [24] у подібній до нашої моделі дослідження спостерігали незворотні зміни в будові яєчок у пубертатних щурів, що проявлялося у збільшенні щільності міжтрубчастого компартменту та зменшенні щільності у трубчастому відділі сім'яників.

У тварин, які зазнали пубертатного стресу, спостерігали вірогідне зменшення кількості сперматозоїдів у змивах придатків сім'яників та уповільнення окисно-відновних процесів (зменшення дихального індексу) у сперматозоїдах у 2,4 раза (таблиця). Рух-

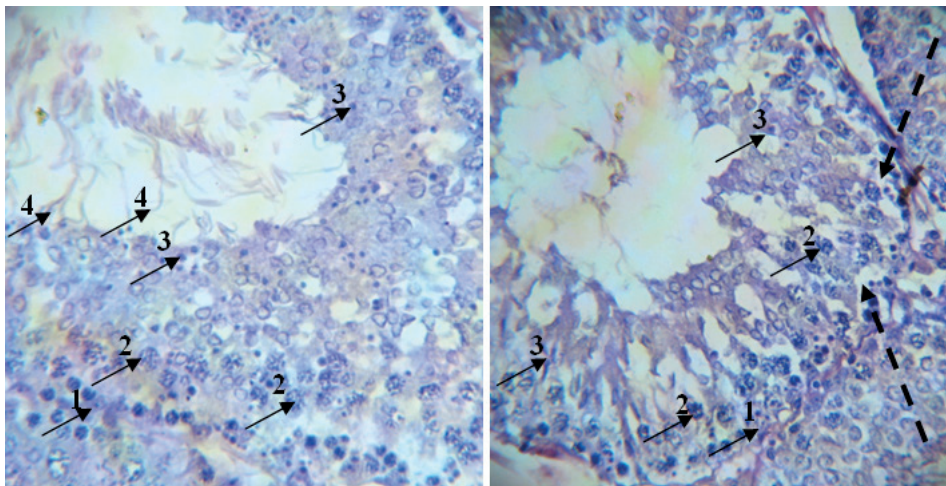


Рис. 2. Мікрофотографії сім'яників щурів: а – контроль; б – пубертатний стрес. Суцільна стрілка: 1 – сперматогонії; 2 – сперматоцити; 3 – ранні сперматиди; 4 – пізні сперматиди. Пунктирні стрілки вказують на вакуолізацію клітин; забарвлення гематоксилін-еозин; х 200

Показники спермограми щурів

Показник	Контроль (n = 7)	Стрес (n = 6)
Вміст сперматозоїдів, млн/мл	$59,50 \pm 2,49$	$44,08 \pm 3,44^*$
Дихальний індекс	$0,79 \pm 0,12$	$0,33 \pm 0,05^*$
Форми сперматозоїдів, %:		
нормальні	$44,93 \pm 2,23$	$40,00 \pm 2,21$
«м'які»	$30,21 \pm 3,07$	$42,75 \pm 1,49^*$
дугоподібні	$12,07 \pm 1,49$	$10,25 \pm 1,76$
деформація головки	$3,57 \pm 0,77$	$1,17 \pm 0,48^*$
деформація хвоста	$9,21 \pm 1,91$	$5,75 \pm 1,17$

* $P < 0,05$ порівняно з контролем.

ливість сперматозоїдів не змінювалась. При аналізі нативних препаратів мазків сперматозоїдів виявлено, що у щурів дослідної групи суттєво зростала кількість сперматозоїдів «м'якої» форми, в той час як у контрольних тварин було трохи більше сперматозоїдів з деформацією головки. Відмічені порушення морфологічної характеристики сперматозоїдів можуть призвести до зниження запліднювальної здатності тварин, які зазнали пубертатного стресу.

Морфологічна будова яєчників та кількість фолікулів, а також тривалість та фазова структура естрального циклу не відрізнялась у самиць контрольної і дослідної груп.

Результати вимірювання вмісту МДА у сім'яниках та яєчниках нормальних та стресованих у пубертатному віці щурів наведені на рис.3. Отримані дані вказують на інтенсифікацію перекисного окислення ліпідів у цих залозах, що є ознакою оксидативного стресу.

У дорослих існує реципрокний зв'язок між ГГАС і гіпоталамо-гіпофізарно-гонадною віссю, де активація однієї впливає на функцію іншої і навпаки [25]. Однак ці ефекти є зворотними і після закінчення дії стресорів функціонування репродуктивної системи відновлюється.

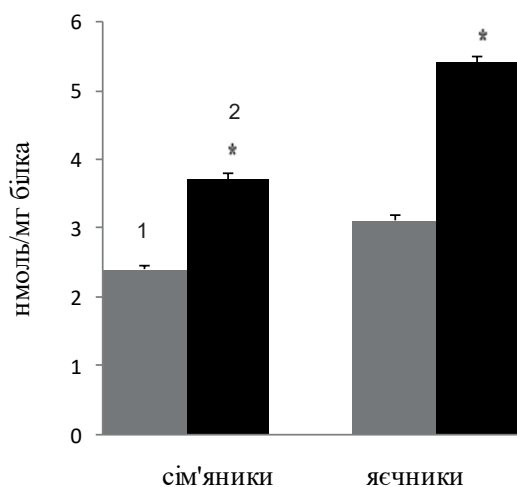


Рис. 3. Вміст малонового діальдегіду у гонадах контрольних (1) і стресованих (2) щурів. * $P < 0,05$ порівняно з контролем

Статистичні дані свідчать про те, що індуковані стресом репродуктивні розлади у жінок зустрічаються утричі частіше за чоловіків. Це зумовлено особливостями діяльності жіночої ендокринної системи, зокрема впливом естрогенів на ГГАС та психічно-емоційну складову вищої нервової діяльності [26]. Класичним прикладом цього є так звана аменорея військового часу.

Стрес у критичні періоди розвитку репродуктивної системи може мати віддалені статевоспецифічні наслідки. Більш стійкими до дії стресогенних чинників у цей час є самиці. Це є зрозумілим стосовно пре- і раннього постнатального періодів, під час яких відбувається статевая диференціація мозку (маються на увазі структури, пов'язані з секрецією гонадотропінів), оскільки від самого початку мозок є «жіночим» [27]. Однак за наявності андрогенів розвиток іде за чоловічим типом. Перший пік синтезу тестостерону яєчками плода, який наближається до рівня у дорослих самців, відбувається у так званому «вікні маскулізації», який у щурів припадає на 16-19-ту добу гестації [28]. По закінченні цього періоду вміст тестостерону різко знижується і залишається таким до початку статевого дозрівання. Ароматизація андрогену в естрадіол, яка відбувається в гіпоталамусі, програмує тонічну, тобто чоловічу, секрецію ГнРГ після настання пубертату. Впродовж останнього завершується становлення репродуктивної системи, супроводжуючись підвищенням вмістом статевих гормонів, що призводить до змін в нейроендокринній системі та поведінці, характерній дорослим особинам [29]. Отже, нормальний розвиток чоловічої репродуктивної системи потребує як «організаційного» впливу андрогенів (впродовж вікна маскулізації), так і їх постнатального «активаційного» впливу (під час статевого дозрівання). Дефіцити першого не піддаються корекції, тоді як активаційний вплив андрогенів, у принципі, можна виправити лікуванням, спрямованим на нормалізацію секреції ЛГ і тестостерону [28].

У нашому дослідженні виявлено пошкодження сперматогенезу у щурів, які зазнали хронічного стресу впродовж пубертату, на тлі незміненого вмісту сироваткового тестостерону. Однак у цих тварин не виключені зміни вмісту інтратестикулярних андрогенів. Відомо, що успішне проходження тестикулярного сперматогенезу та дозрівання сперматозоїдів у епідидимісах потребують вищої концентрації андрогенів, ніж спостерігається в крові. Локальні високі концентрації тестостерону забезпечуються андроген зв'язуючим білком, який синтезується клітинами Сертолі. Можливо, відмічена нами вакуолізація сперматогенного епітелію свідчить про порушення інтратестикулярного вмісту тестостерону.

Також нами вперше виявлена значна інтенсифікація перекисного окислення ліпідів у гонадах дослідних тварин. Віддалені порушення про-антиоксидантного балансу в крові були відмічені як після раннього неонатального [30-33], так і після пубертатного стресів [34]. А одним із наслідків зміненої системи антиоксидантного захисту в гонадах може бути прискорення пов'язаної з віком втрати генеративної та стероїдогенної функції гонад [35, 36].

ВИСНОВКИ

1. Хронічний іммобілізаційний стрес впродовж пубертату вірогідно відтермінував статеве дозрівання самиць та спричиняв негативний статевоспецифічний вплив на соматичний розвиток.

2. У дорослих самців, що зазнали пубертатного стресу, на тлі збереження нормального вмісту тестостерону в плазмі крові погіршувалися кількісні і якісні (зниження індексу дихання і збільшення кількості «м'яких» форм сперматозоїдів) показники спермограми.

3. Результати гістологічного дослідження сім'яників дорослих щурів, стресованих у пубертатному віці, свідчать про порушення сперматогенезу.

4. У дорослих самиць не виявлено негативних віддалених ефектів хронічного пубертатного стресу на досліджувані показники стану репродуктивної системи, що вказує на її меншу вразливість порівняно з самцями.

Робота виконана за бюджетні кошти згідно наукового проекту № 546 НАМН України.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

O.V. Sachynska, O.A. Faliush, I.G. Perchyk, A.A. Lymareva, A.G. Reznikov

STRESS DURING PUBERTY EXERTS LONG-LASTING SEX-SPECIFIC REPRODUCTIVE EFFECTS IN ADULT RATS

SI "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv; e-mail: 4310281@ukr.net

Adolescence is one of the critical periods of individual development, which is highly sensitive to changes caused by stress factors. Stress-related hormonal imbalances can negatively affect puberty and reproductive function. The aim of the study was to investigate the long-lasting reproductive effects of chronic pubertal stress in rats. Animals were subjected to immobilization stress daily from 30 to 45 postnatal day by placing them for 1 h in cylinders 4.5 cm in diameter and 10 cm in long, equipped with breathing holes. The timing of puberty in animals was studied and their somatic development was assessed. Further studies were conducted in 6-month-old sexually mature rats. The results were compared with the corresponding parameters in intact animals. Pubertal stress delayed sexual maturation in females and decreased weight gain in males. In adult animals of both sexes, pubertal stress did not change testosterone levels or the weight and morphology of the gonads significantly, except for minor vacuolation of the spermatogenic epithelium. The spermatogenesis index in the experimental group was significantly lower than in the control, due to a decrease in the number of late spermatids. Pubertal stress led to a 25.9% decrease in the number of spermatozoa in epididymal washes, an increase in the number of their pathological forms and a 2.4-fold slowdown in oxidative-reductive processes in spermatozoa. The content of malonic dialdehyde increased in the testes and ovaries, which indicates the activation of lipid peroxidation. Thus, chronic pubertal stress led to

a decrease in the reproductive potential of male rats. Females are less susceptible to the negative effects of pubertal stress. Key words: stress; puberty; rats; males; females; reproductive system.

REFERENCES

- Hueston CM, Cryan JF, Nolan YM. Stress and adolescent hippocampal neurogenesis: diet and exercise as cognitive modulators. *Transl Psychiatr.* 2017;7(4):e1081.
- Harris EP, Villalobos-Manriquez F, Melo TG, Clarke G, O'Leary OF. Stress during puberty exerts sex-specific effects on depressive-like behavior and monoamine neurotransmitters in adolescence and adulthood. *Neurobiol Stress.* 2022;21:100494.
- Mancha-Gutiérrez HM, Estrada-Camarena E, Mayagoitia-Navales L, López-Pacheco E, López-Rubalcava C. Chronic social defeat during adolescence induces short- and long-term behavioral and neuroendocrine effects in male swiss-webster mice. *Front Behav Neurosci.* 2021;15:734054.
- Gibson S, Fleming N, Zuidwijk C, Dumont T. Where have the periods gone? The evaluation and management of functional hypothalamic amenorrhea. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2020;12(Suppl 1):18-27.
- Hager M, Dewailly D, Marculescu R, Ghobrial S, Parry JP, Ott J. Stress and polycystic ovarian morphology in functional hypothalamic amenorrhea: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2023;21(1):42.
- Pańubska S, Adamiak-Godlewska A, Winkler I, Romanek-Piva K, Rechberger T, Gogacz M. Hyperprolactinaemia - a problem in patients from the reproductive period to the menopause. *Prz Menopauzal.* 2017;16(1):1-7.
- Abaturov AE, Nikulina AO, Alieinykova TD. Clinical features of hyperprolactinemia in children: modern methods of diagnosis and treatment. *Zdorov'e Rebenka.* 2022;17(1):28-36. [Ukrainian].
- Levine S, Muneyirici-Delale O. Stress-induced hyperprolactinemia: pathophysiology and clinical approach. *Obstet Gynecol Int.* 2018;2018:9253083.
- Romeo RD, Patel R, Pham L, So VM. Adolescence and the ontogeny of the hormonal stress response in male and female rats and mice. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016;70:206-16.
- Romeo RD, Sciortino RK. Age-dependent changes in hormonal stress reactivity following repeated restraint stress throughout adolescence in male rats. *Stress.* 2021;24(5):496-503.
- Kann RB, Romeo RD. Pubertal changes in the pituitary and adrenal glands of male and female rats: Relevance to stress reactivity. *Neurobiol Stress.* 2022;18:100457.
- Goldman L, Winget C, Hollingshead GW, Levine S. Postweaning development of negative feedback in the pituitary-adrenal system of the rat. *Neuroendocrinology.* 1973;3(3):199-211.
- Foill AR, Lui P, Romeo RD. The transformation of hormonal stress responses throughout puberty and adolescence. *J Endocrinol.* 2011;210(3):391-8.
- Kaplowitz ET, Savenkova M, Karatsoreos IN, Romeo RD. Somatic and neuroendocrine changes in response to chronic corticosterone exposure during adolescence in male and female rats. *J Neuroendocrinol.* 2016;28(2):12336.
- Liu B, Zhao L, Yue C, Qian M, Xie M. Changes in gonadal function at different stages of chronic restraint stress-induced depression animals. *Physiol Behav.* 2019;210:112656.
- Wommack JC, Salinas A, Melloni RH Jr, Delville Y. Behavioural and neuroendocrine adaptations to repeated stress during puberty in male golden hamsters. *J Neuroendocrinol.* 2004;16(9):767-75.
- Preclinical studies of medicinal products (methodological recommendations). In: Stefanov OV, ed. Kyiv: Avicenna; 2001. [Ukrainian].
- Haruta GG, Volkov SS, Plahotniuk IM, Vlasenko SA, Velbivets MV, Ivashenko BP. Training manual obstetrics, gynecology and artificial insemination of farm animals. Kyiv: Agrarian Education; 2013;81. [Ukrainian].
- V.V. Lemeshko, Yu.V. Nikitchenko, Peroxidation of biomembrane lipids and its enzymatic regulation during aging in the rat. *Ukr Biokhim Zh.* 1987 Mar-Apr; 59(2):50-7.
- Li XF, Adekunbi DA, Alobaid HM, Li S, Pilot M, Lightman SL, O'Byrne KT. Role of the posterodorsal medial amygdala in predator odour stress-induced puberty delay in female rats. *J Neuroendocrinol.* 2019;31(6):e12719.
- Kinsey-Jones JS, Li XF, Knox AM, Lin YS, Milligan SR, Lightman SL, O'Byrne KT. Corticotrophin-releasing factor alters the timing of puberty in the female rat. *J Neuroendocrinol.* 2010;22(2):102-9.
- Jankord R, Solomon MB, Albertz J, Flak JN, Zhang R, Herman JP. Stress vulnerability during adolescent development in rats. *Endocrinology.* 2011;152(2):629-38.
- Almeida SA, Kempinas WG, Lamano Carvalho TL. Sexual behavior and fertility of male rats submitted to prolonged immobilization-induced stress. *Braz J Med Biol Res.* 2000;33(9):1105-9.
- Ribeiro CT, De Souza DB, Costa WS, Sampaio FJB, Pereira-Sampaio MA. Immediate and late effects of chronic stress in the testes of prepubertal and adult rats. *Asian J Androl.* 2018;20(4):385-90.
- Toufexis D, Rivarola MA, Lara H, Viau V. Stress and the reproductive axis. *J Neuroendocrinol.* 2014;26(9):573-86.
- Baraboy VA, Reznikov AG. Physiology, biochemistry and psychology of stress. Kyiv: Interservice, 2013. [Ukrainian].
- Reznikov AG. Developmental neuroendocrinology of reproduction and adaptation: Lessons from animal research. *Fiziol Zh.* 2021;67(3):54-74.
- Sharpe RM. Androgens and the masculinization programming window: human-rodent differences. *Biochem Soc Trans.* 2020;48(4):1725-35.
- Heck AL, Handa RJ. Sex differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis' response to stress: an important role for gonadal hormones. *Neuropsychopharmacology.*

- 2019;44(1):45-58.
30. Karanikas E, Daskalakis NP, Agorastos A. Oxidative dysregulation in early life stress and posttraumatic stress disorder: a comprehensive review. *Brain Sci.* 2021;11(6):723.
31. Malcon LMC, Wearick-Silva LE, Zaparte A, Orso R, Luft C, Tractenberg SG, Donadio MVE, de Oliveira JR, Grassi-Oliveira R. Maternal separation induces long-term oxidative stress alterations and increases anxiety-like behavior of male Balb/cJ mice. *Exp Brain Res.* 2020;238(9):2097-107.
32. Ghatebi M, Zavareh S, Lashkarbolouki T, Elahdadi Salmani M. Implications from early life stress on the development of mouse ovarian follicles: Focus on oxidative stress. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(8):1506-14.
33. Khodamoradi K, Amini-Khoei H, Khosravizadeh Z, Hosseini SR, Dehpour AR, Hassanzadeh G. Oxidative stress, inflammatory reactions and apoptosis mediated the negative effect of chronic stress induced by maternal separation on the reproductive system in male mice. *Reprod. Biol.* 2019;19:340–48.
34. Mousavi MS, Riazi G, Imani A, Meknatkhah S, Fakhraei N, Pooyan S, Tofigh N. Comparative evaluation of adolescent repeated psychological or physical stress effects on adult cognitive performance, oxidative stress, and heart rate in female rats. *Stress.* 2019;22(1):123-32.
35. Wang Y, Chen F, Ye L, Zirkin B, Chen H. Steroidogenesis in Leydig cells: effects of aging and environmental factors. *Reproduction.* 2017;154(4):R111-22.
36. Reznikov A, Sachynska O, Lymareva A, Faliush O. Developmental, behavioral and endocrine alterations in male rats at early and late postnatal life following in utero exposure to low dose di-n-butylphthalate. *Toxicol Res.* 2020;37(2):173-81.

*Матеріал надійшов
до редакції 15.04.2024*