






doi 10.18699/vjgb-26-58

# Эффекты хронического психосоциального стресса на развитие ооцитов и преимплантационных эмбрионов мышей

Т.Н. Игонина <sup>1</sup> , И.Д. Чекашов <sup>1, 2</sup>, А.А. Левинсон<sup>2</sup>, С.Я. Амтиславский <sup>1</sup><sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия<sup>2</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия egik\_00@mail.ru

**Аннотация.** Эффекты хронического психосоциального стресса на созревание ооцитов, оплодотворение и ранние этапы развития эмбрионов млекопитающих остаются недостаточно изученными. Настоящее исследование направлено на изучение влияния хронического психосоциального стресса на репродуктивные показатели самок мышей и развитие эмбрионов, полученных после оплодотворения *in vitro* и *in vivo*. Хронический стресс моделировали с помощью 21-дневного протокола, включавшего период социальной изоляции, за которым следовало содержание в условиях высокой скученности. Проведены два эксперимента с воздействием стресса на стадии фолликулогенеза, различавшихся способом оплодотворения. В эксперименте 1 у самок мышей после воздействия стресса были извлечены ооциты, проведено дозревание ооцитов *in vitro*, экстракорпоральное оплодотворение и исследовано раннее развитие полученных эмбрионов. Эксперимент 2 отличался тем, что оплодотворение было *in vivo*, полученные эмбрионы культивировали *in vitro* с двухклеточной стадии. Для оценки преимплантационного развития эмбрионов бластоцисты фиксировали, окрашивали методом TUNEL/DAPI и анализировали с помощью флуоресцентной микроскопии, подсчитывая число интерфазных ядер и индекс апоптоза. Эксперимент 1 показал, что хронический стресс не оказывает влияния на дозревание ооцитов и их способность к оплодотворению. Однако эмбрионы из группы «стресс» содержали меньшее число интерфазных ядер ( $p < 0.001$ ), что указывает на замедленную скорость дробления. Между тем уровень апоптоза в этих бластоцистах был сопоставим с таковым в контрольной группе. В эксперименте 2 хронический стресс вызвал снижение процентной доли эмбрионов, достигших стадии бластоцисты в течение периода культивирования, и увеличение доли морул ( $p < 0.01$ ), а также снижение числа интерфазных ядер в бластоцистах ( $p < 0.001$ ). Эксперименты показали, что хронический психосоциальный стресс оказывает умеренное, но значимое влияние на раннее эмбриональное развитие, главным образом за счет снижения пролиферативной активности клеток. Эти результаты, полученные на мышах, имеют трансляционное значение для репродуктивной медицины и подчеркивают важность учета материнского стресса при анализе исходов ВРТ.

**Ключевые слова:** хронический психосоциальный стресс; ооциты; эмбрионы; оплодотворение *in vitro*; раннее эмбриональное развитие; TUNEL-анализ; апоптоз; вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ)


**Для цитирования:** Игонина Т.Н., Чекашов И.Д., Левинсон А.А., Амтиславский С.Я. Эффекты хронического психосоциального стресса на развитие ооцитов и преимплантационных эмбрионов мышей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(4):557-568. doi 10.18699/vjgb-26-58

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-25-00139. Содержание животных осуществлялось за счет средств бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН (FWNR-2026-0028).

**Благодарности.** Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» Института цитологии и генетики СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023).

**Вклад авторов.** Идея работы и планирование эксперимента – С.Я.А., Т.Н.И., А.Л.Л., проведение экспериментов – Т.Н.И., И.Д.Ч., обработка и обсуждение результатов – Т.Н.И., И.Д.Ч., А.Л.Л., С.Я.А., написание и редактирование рукописи – Т.Н.И., И.Д.Ч., А.Л.Л., С.Я.А.

## Effects of chronic psychosocial stress on the development of mouse oocytes and preimplantation embryos

T.N. Igonina <sup>1</sup> , I.D. Chekashov <sup>1, 2</sup>, A.L. Levinson<sup>2</sup>, S.Ya. Amstislavsky <sup>1</sup><sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia<sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia egik\_00@mail.ru

**Abstract.** The impact of psychosocial chronic stress on mammalian oocyte maturation, fertilization and early stages of embryonic development remains poorly understood. This study addresses the effects of chronic psychosocial stress on the reproductive outcome in female mice, i.e. the development of *in vitro*- and *in vivo*-derived embryos. The model of

chronic stress used in the study comprised a 21-day protocol consisting of a period of social isolation followed by the overcrowding. Two experiments were conducted, varying in the type of fertilization. In experiment 1, female mice were stressed at the folliculogenesis stages; then oocyte maturation and *in vitro* fertilization were performed, and the early development of the *in vitro*-derived embryos was studied. Experiment 2 differed in that fertilization was performed *in vivo*, and the resulting *in vivo*-derived embryos were cultured *in vitro* since the two-cell stage. To assess preimplantation embryo development, blastocysts were fixed, stained with the TUNEL/DAPI method and analyzed using fluorescence microscopy, i.e. the number of interphase nuclei and the apoptosis index were estimated. The results of Experiment 1 showed that chronic stress did not affect oocyte maturation or their fertilization capacity. However, embryos from the stress group contained fewer interphase nuclei ( $p < 0.001$ ), which points to a lower cleavage rate. Meanwhile, the apoptosis rate in these blastocysts was comparable to controls. Experiment 2 showed that chronic stress caused a decrease in the proportion of embryos that achieved the blastocyst stage during the culture period and an increase in the proportion of morulae ( $p < 0.01$ ), as well as a decrease in the number of interphase nuclei in blastocysts ( $p < 0.001$ ). Experiments demonstrated that the chronic psychosocial stress exerts a moderate but significant effect on early embryonic development, primarily via the reduced proliferative activity of embryonic cells. These results obtained in mice have a translational value for reproductive medicine and highlight the importance of maternal stress when analyzing ART outcomes.

**Key words:** chronic psychosocial stress; oocytes; embryos; *in vitro* fertilization; early embryonic development; TUNEL assay; apoptosis; assisted reproductive technologies (ART)

**For citation:** Igonina T.N., Chekashov I.D., Levinson A.L., Amstislavsky S.Ya. Effects of chronic psychosocial stress on the development of mouse oocytes and preimplantation embryos. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(4):557-568. doi 10.18699/vjgb-26-58

## Введение

Хронический психосоциальный стресс стал неотъемлемым атрибутом жизни в современном мегаполисе. Урбанизация порождает комплекс преимущественно психологических стрессоров, включая социальную перегрузку (скученность, избыток поверхностных контактов) в сочетании с дефицитом значимых связей, профессиональные нагрузки и неопределенность, что негативно сказывается на психоэмоциональном состоянии и репродуктивной функции (Ochnik et al., 2024; Orquiza, 2024).

Хронический стресс активирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую (ГГН) ось, что сопровождается повышением синтеза глюкокортикоидов (James et al., 2023). Их воздействие на репродуктивную функцию реализуется через прямые и опосредованные механизмы (Zhai et al., 2020; Bhaumik et al., 2023; Jeon et al., 2023).

Прямое влияние осуществляется через глюкокортикоидные рецепторы в клетках яичника (гранулезных, тека-клетках) и в раннем эмбрионе (Bhaumik et al., 2023; Jeon et al., 2023). В яичнике активация этих рецепторов подавляет пролиферацию, индуцирует апоптоз гранулезных клеток, нарушает стероидогенез и ухудшает качество ооцитов (Prasad et al., 2016; Bhaumik et al., 2023). На преимплантационном этапе развития повышенный уровень кортикостерона у матери может напрямую подавлять деление эмбриональных клеток, снижать количество клеток в бластоцисте и приводить к задержке хетчинга (Liu et al., 2012; Zhai et al., 2020).

Опосредованным механизмом влияния стресса на репродукцию является подавление гипоталамо-гипофизарно-гонадной (ГГГ) оси. Повышенный уровень глюкокортикоидов ингибирует секрецию гонадолиберина (GnRH) в гипоталамусе, тем самым снижая выработку гонадотропинов – лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов (Zhou et al., 2019). Недостаток этих гормонов нарушает ключевые овариальные процессы: фолликулогенез, овуляцию и синтез половых стероидов (Zhai et al., 2020).

Такое системное нарушение регуляции создает риски для репродуктивного здоровья и может способствовать развитию бесплодия, распространенность которого достигает 12.6–17.5 % среди пар репродуктивного возраста (Cox et al., 2022). Для лечения бесплодия в клинической практике все чаще применяют вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) (Abdullah et al., 2023). В то же время накапливаются данные, указывающие на то, что хронический стресс является значимым фактором, способным влиять на эффективность ВРТ (Zhou et al., 2019; Левинсон и др., 2022). Большинство исследований в этой области сосредоточено на изучении системных гормональных изменений (Valsamakis et al., 2019), тогда как воздействие стрессовых факторов на созревание ооцитов и раннее развитие эмбрионов в условиях применения ВРТ остается недостаточно изученным. При этом актуальность таких исследований возрастает в связи с увеличением числа женщин, прибегающих к процедурам ВРТ (Chambers et al., 2021).

Эксперименты на лабораторных животных также показывают, что стрессовые воздействия различной природы у самок мышей нарушают регуляцию ГГГ оси, что сопровождается изменением гормонального фона и негативно сказывается на репродуктивной системе (Zhai et al., 2020). Однако работ, в которых изучали эффекты стресса именно психосоциальной природы на репродуктивную функцию самок и результат применения ВРТ, крайне мало (Левинсон и др., 2022).

В настоящем исследовании применена модель хронического психосоциального стресса, адаптированная нами ранее для самок мышей (Лебедева и др., 2024; Igonina et al., 2024a, b). Основное внимание уделено изучению созревания ооцитов *in vitro* и *in vivo*, эффективности ЭКО и последующего развития эмбрионов в условиях хронического психосоциального стресса. Новизна подхода заключается в моделировании хронического психосоциального стресса у животных с последующей оценкой его влияния на ключевые этапы протоколов ВРТ – от созревания ооцитов до

культивирования эмбрионов, что обеспечивает высокую трансляционную ценность данной работы.

Цель исследования – оценить влияние хронического психосоциального стресса на репродуктивную функцию самок мышей и раннее эмбриональное развитие как при *in vitro*, так и при *in vivo* оплодотворении.

## Материалы и методы

**Экспериментальные животные.** Исследования проводили на половозрелых самках ( $n = 27$ ) и фертильных самцах ( $n = 25$ ) мышей линии CD1 в возрасте 2,5 месяца, выращенных в условиях SPF (specific pathogen free) вивария Института цитологии и генетики СО РАН. Животных содержали в индивидуально вентилируемых клетках OptiMice (Animal Care, США) размером  $34.3 \times 29.2 \times 15.5$  см (длина  $\times$  ширина  $\times$  высота) при температуре 22–24 °C и относительной влажности 40–50 %. В качестве подстилки использовали стерильную березовую щепу фракционную для лабораторных животных (ТУ 16.10.23-001-0084157135-2019). Все животные имели свободный доступ к стандартизированному автоклавированному комбикорму для лабораторных мышей и крыс «Дельта Фидс» («БиоПро», Россия) и очищенной воде «Северянка» («Экопроект», Россия), обогащенной минеральными добавками. В течение всего эксперимента поддерживался стабильный световой режим: 12 ч свет/12 ч темнота (включение освещения в 3:00).

**Модель хронического психосоциального стресса.** Животных опытной группы содержали в условиях социальной изоляции (по одной самке в клетке) в течение 11 сут, после чего переводили в условия скученности (социальной перегрузки) – по 11 самок в одной клетке на протяжении следующих 10 сут. Общая продолжительность стресс-протокола составляла 21 сут. Животных

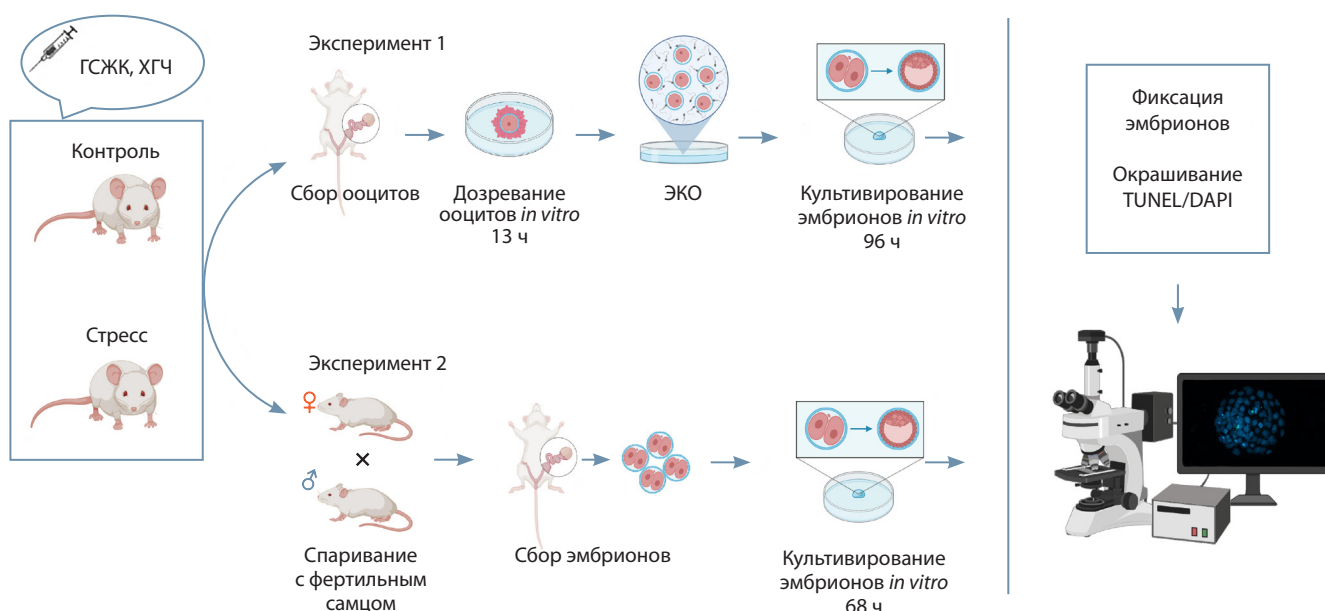
контрольной группы содержали в стандартных условиях вивария – группами по 5 самок в клетке. Верификацию применяемой модели хронического стресса проводили по уровню кортикостерона в сыворотке крови.

**Дизайн эксперимента.** Самки мышей были случайным образом распределены между двумя группами: контрольная группа – без стресса; стрессовая группа – хронический психосоциальный стресс согласно описанному выше протоколу.

Для оценки влияния хронического психосоциального стресса на репродуктивную функцию и раннее эмбриональное развитие были проведены два последовательных эксперимента, различающихся по способу оплодотворения (рис. 1). Все самки были гормонально стимулированы с целью суперовуляции (протокол представлен ниже).

**Эксперимент 1. Влияние стресса на созревание ооцитов, оплодотворение *in vitro* и раннее развитие эмбрионов.** Самки обеих групп (контроль,  $n = 6$ ; стресс,  $n = 6$ ) подвергались эвтаназии с использованием углекислого газа через 4 ч после введения ХГЧ. Производили забор крови и яичников. Из яичниковой ткани выделяли незрелые ооциты на стадии герминального везикула (GV). Ооциты дозревали *in vitro*, затем оплодотворяли с помощью ЭКО. Полученные эмбрионы культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 96 ч, после чего эмбрионы фиксировали в 4 % формалине на фосфатно-солевом буфере, окрашивали TUNEL/DAPI и анализировали с помощью флуоресцентной микроскопии.

**Эксперимент 2. Влияние стресса на развитие эмбрионов, оплодотворенных *in vivo*.** Самок обеих групп (контроль,  $n = 8$ ; стресс,  $n = 7$ ) спаривали с фертильными самцами. Через 48 ч после ссаживания животных подвергали эвтаназии с использованием углекислого газа, осуществляли забор крови и извлекали эмбрионы из яйце-



**Рис. 1.** Схема дизайна эксперимента.

ГСЖК – гонадотропин сыворотки жеребых кобыл; ХГЧ – хорионический гонадотропин человека.

водов на стадии двух-четырёх бластомеров. Полученные эмбрионы культивировали *in vitro* в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 68 ч. По завершении культивирования эмбрионы фиксировали, окрашивали TUNEL/DAPI и анализировали с помощью флуоресцентной микроскопии.

**Определение уровня кортикостерона в сыворотке крови.** Кровь (0,5 мл) собирали в пробирки непосредственно после декапитации животных. Образцы инкубировали 25 мин при комнатной температуре для формирования сгустка, затем центрифугировали (1000 g, 10 мин, Hermle Z 326, Германия). Полученную сыворотку хранили при –80 °С. Концентрацию кортикостерона в сыворотке определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора «Кортикостерон крыса/мышь–ИФА» («Хема», Россия) согласно инструкции производителя. Оптическую плотность измеряли при 450 нм на планшетном спектрофотометре (Thermo Fisher Scientific, США) через 15 мин после остановки реакции. Концентрацию рассчитывали по калибровочной кривой.

**Гормональная стимуляция яичников.** С целью суперовуляции мышам внутрибрюшинно вводили 7,5 МЕ гонадотропина сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК, фоллигон, Intervet, Нидерланды), а через 46 ч – 7,5 МЕ хорионического гонадотропина человека (ХГЧ, хорулон, Intervet, Нидерланды) в соответствии со стандартным протоколом (Shindo et al., 2022).

**Получение незрелых ооцитов и их дозревание *in vitro*.** Через 4 ч после введения ХГЧ проводили эвтаназию. Яичники извлекали и помещали в предварительно подогретую среду FertiCult Flushing medium (FertiPro, Бельгия). Из ткани яичников с помощью тонкой иглы и пинцета аккуратно извлекали незрелые ооциты на стадии герминального везикула (GV). Ооциты переносили в капли среды НТФ объемом 50 мкл, которые были нанесены на чашки Петри (Corning Incorporated, США), покрыты стерильным минеральным маслом (FertiPro, Бельгия) и предварительно уравновешены в CO<sub>2</sub>-инкубаторе. Культивирование проводили в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (New Brunswick™ Galaxy 48R, Eppendorf, Германия) при 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub> и 90 % влажности в течение 13–14 ч. Зрелость ооцитов оценивали по наличию первого полярного тельца, после чего осуществляли их ЭКО.

**Получение эпидидимального семени.** Эпидидимисы извлекали у эвтаназированных самцов. Ткань помещали в 100 мкл подогретой среды НТФ и надрезали для выхода сперматозоидов. Чашку инкубировали 30 мин при 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub> для капацитации. Затем 10 мкл суспензии переносили в 60 мкл свежей среды НТФ и инкубировали еще 30 мин. Полученный материал использовали для ЭКО.

**Экстракорпоральное оплодотворение.** Зрелые ооциты помещали в капли среды НТФ объемом 60 мкл и культивировали в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора в течение 30 мин. Среда была покрыта минеральным маслом и предварительно уравновешена. Затем к ооцитам добавляли 10 мкл суспензии эпидидимальных сперматозоидов и инкубировали еще 4 ч. После этого ооциты промывали и переносили в среду KSOM AA для дальнейшего культивирования. Успешное

оплодотворение подтверждали по наличию в ооците двух пронуклеусов.

**Получение эмбрионов *in vivo*.** Непосредственно после инъекции ХГЧ самок спаривали с фертильными самцами. Успешность спаривания определяли через 18 ч по наличию копулятивной пробки и/или сперматозоидов в вагинальных мазках. Через 48 ч после инъекции ХГЧ проводили эвтаназию оплодотворенных мышей. Затем извлекали яйцеводы и матку, которые промывали раствором FertiCult Flushing medium (FertiPro, Бельгия) с целью получения эмбрионов. Эмбрионы на стадии двух-четырёх бластомеров собирали для последующего культивирования *in vitro*.

**Культивирование эмбрионов *in vitro*.** Эмбрионы культивировали в каплях среды KSOM AA объемом 20 мкл под минеральным маслом. Инкубацию проводили в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (New Brunswick™ Galaxy 48R, Eppendorf, Германия) при 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub> и 90 % влажности.

Качество и темп развития эмбрионов определяли ежедневно с помощью световой микроскопии (Leica S80 APO, Германия). Для эмбрионов на стадиях дробления анализировали число, форму и размер бластомеров, а также общую морфологию. Для бластоцист оценивали размер бластоцеля, компактность внутренней клеточной массы (ВКМ), а также плотность расположения клеток трофэктодермы (ТЭ). Эмбрион считали нормально развивающимся, если он соответствовал ожидаемой для срока культивирования стадии, не имел признаков повреждения (вакуолизация, грануляция цитоплазмы), степень фрагментации не превышала 20 %, бластоцисты имели компактную ВКМ и бластоцель, окруженный клетками ТЭ. При отсутствии возрастания числа клеток или перехода на следующую стадию в течение 24 ч наблюдения эмбрионы классифицировали как неразвивающиеся. Полученные качественные оценки (развивающийся/неразвивающийся) и процентное содержание эмбрионов, достигших каждой конкретной стадии, использовали для последующего статистического анализа динамики развития *in vitro*.

**Окрашивание бластоцист DAPI и TUNEL с последующей флуоресцентной микроскопией.** Эмбрионы фиксировали и окрашивали с помощью набора TUNEL FITC (Vazyme, Китай) по протоколу производителя. После трехкратной промывки фосфатно-солевым буфером образцы обрабатывали протеиназой К (5 мин), инкубировали в уравновешивающем буфере (15 мин), а затем в растворе TUNEL (1 ч, 37 °С). Затем их промывали, окрашивали DAPI (5 мин) и помещали на предметные стекла. Визуализацию проводили на микроскопе Zeiss Axio Imager 2 (Германия) с фильтрами DAPI-FITC. Число ядер и апоптотических клеток подсчитывали в программе ImageJ. Индекс апоптоза рассчитывали как отношение апоптотических клеток к общему числу клеток.

Всего было проанализировано 124 рандомно взятых для анализа эмбриона, полученных *in vitro* в результате ЭКО (65 – в контрольной группе, 59 – в стрессовой группе), и 274 эмбриона, полученных *in vivo* после естественного спаривания (166 – в контрольной группе, 108 – в стрессовой группе).

**Приготовление культуральных сред.** Для проведения ЭКО готовили среду human tubal fluid (HTF) (Quinn et al., 1985). Для дозревания ооцитов применяли модификацию этой среды (HTFm). Эмбрионы культивировали в KSOM AA по (Chatot et al., 1989). Все среды готовили самостоятельно из отдельных компонентов (табл. S1 Приложения)<sup>1</sup> в очищенной воде, стерилизовали фильтрованием через мембрану 0.22 мкм и уравнивали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе под слоем минерального масла при 37 °C ≥ 4 ч.

**Статистический анализ.** Данные анализировали с использованием пакета STATISTICA v. 8.0 (StatSoft Inc). Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро–Уилка. Параметры с нормальным распределением (уровень кортикостерона, доля зрелых и оплодотворенных ооцитов) сравнивали *t*-критерием Стьюдента. Динамику развития эмбрионов оценивали двухфакторным дисперсионным анализом с повторными измерениями (two-way repeated measures ANOVA). Данные представлены как M ± SEM. Параметры с ненормальным распределением (число интерфазных ядер, индекс апоптоза) анализировали U-критерием Манна–Уитни и представляли как медиану с 25-м и 75-м перцентилями. Данные по стадиям развития эмбрионов сравнивали с применением критерия χ<sup>2</sup> (хи-квадрат). Уровень значимости – *p* < 0.05.

## Результаты

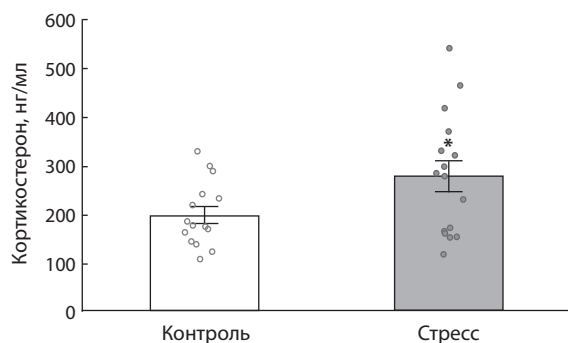
### Верификация модели стресса

У самок, подвергнутых хроническому психосоциальному стрессу, уровень кортикостерона в сыворотке крови был достоверно выше (*p* < 0.05, *t*-критерий Стьюдента), чем в контроле (рис. 2), что верифицирует модель стресса.

### Влияние стресса на созревание ооцитов, оплодотворение *in vitro* и раннее развитие эмбрионов

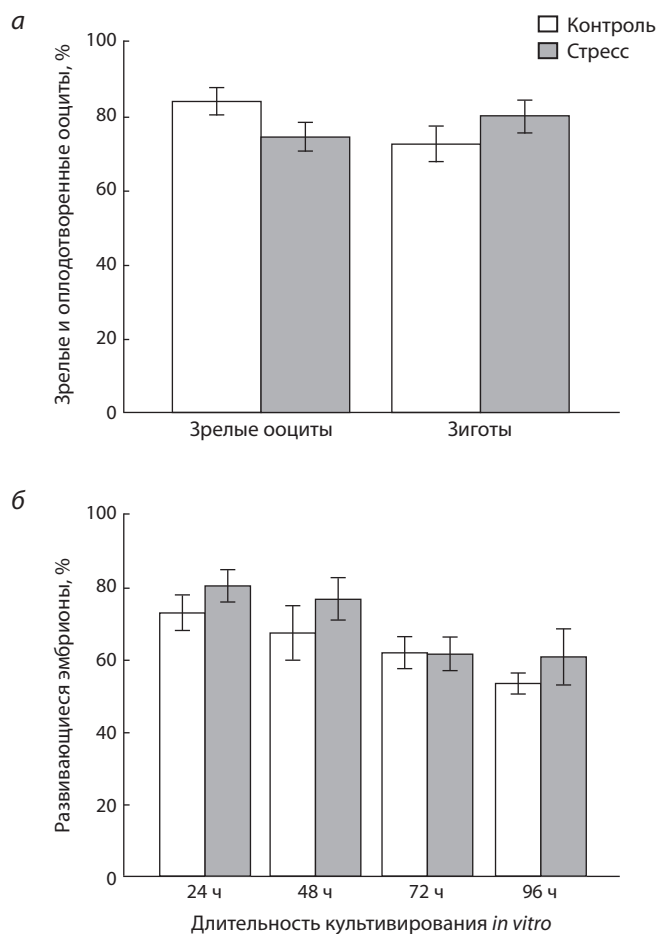
От самок контрольной группы (*n* = 6) и группы, подвергнутой хроническому стрессу (*n* = 6), было получено соответственно 184 и 140 незрелых ооцитов на стадии герминативного пузырька (GV). После культивирования *in vitro* в течение 13–14 ч до стадии MII дозрело 155 (84.2 %) ооцитов в контроле и 105 (75.0 %) в группе стресса. Последующее их оплодотворение методом ЭКО привело к образованию зигот в 80.4 % (119/155) случаев в контрольной группе и в 84.6 % (88/105) случаев в группе стресса. Статистический анализ полученных данных с использованием *t*-критерия Стьюдента не выявил достоверных различий между группами ни по доле дозревших ооцитов (*p* > 0.05), ни по эффективности оплодотворения (*p* > 0.05) (рис. 3, а).

Развитие эмбрионов *in vitro* на всех этапах культивирования протекало сходным образом в контрольной и стрессовой группах (см. рис. 3, б, табл. 1). Двухфакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями не выявил значимого влияния хронического психосоциального стресса: отсутствовали как основной эффект фактора «стресс» (*F*(1,10) = 1.2, *p* > 0.05), так и его взаимодействие



**Рис. 2.** Содержание кортикостерона в сыворотке крови у контрольных и подвергнутых хроническому стрессу животных.

Данные представлены как M ± SEM. Число животных/образцов: *n* = 15 (группа «контроль»); *n* = 16 (группа «стресс»). \* *p* < 0.05 при сравнении с контрольной группой (*t*-критерий Стьюдента).



**Рис. 3.** Влияние хронического психосоциального стресса на дозревание ооцитов, их фертилизационный потенциал и развитие эмбрионов *in vitro*.

а – процентное содержание ооцитов, достигших стадии MII (число зрелых ооцитов в группе «контроль»: *n* = 155, в группе «стресс»: *n* = 105) и зигот, образовавшихся после ЭКО (число полученных зигот в группе «контроль»: *n* = 119, в группе «стресс»: *n* = 88); б – развитие эмбрионов в зависимости от длительности культивирования (исходное число эмбрионов, поставленных на культуру в группе «контроль»: *n* = 119, в группе «стресс»: *n* = 88). Данные представлены как M ± SEM (в среднем на самку).

<sup>1</sup> Табл. S1 и рис. S1 Приложения см. по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx31.pdf>

**Таблица 1.** Стадии развития эмбрионов, оплодотворенных *in vitro*, после 96 ч культивирования

Группа	Морулы	Бластоцисты	Остановка развития
Контроль	43.1 (28)	50.8 (33)	6.2 (4)
Стресс	39.0 (23)	44.1 (26)	16.9 (10)

с длительностью культивирования ( $F(3,30) < 1, p > 0.05$ ). В то же время был обнаружен значимый эффект фактора «длительность культивирования» ( $F(3,30) = 7.8, p < 0.01$ ), отражающий общую динамику эмбрионального развития *in vitro*.

Эмбрионы, полученные методом ЭКО от стрессированных самок, через 96 ч культивирования *in vitro* характеризовались значимо меньшим числом интерфазных ядер по сравнению с контролем ( $p < 0.001$ , U-критерий Манна–Уитни) (рис. 4, а). Доля апоптотических ядер значимо не различалась (см. рис. 4, в).

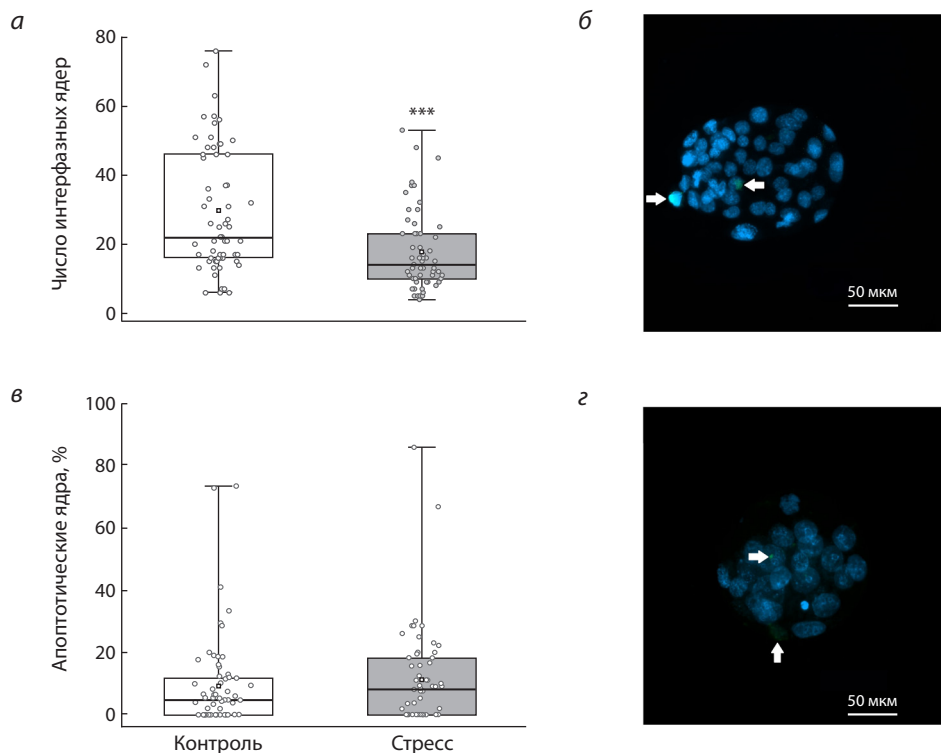
**Влияние стресса на развитие эмбрионов, оплодотворенных *in vivo***

От самок контрольной группы ( $n = 8$ ) и группы, подвергнутой хроническому стрессу ( $n = 7$ ), было получено 139

и 115 эмбрионов соответственно. В контрольной группе 127 (91.4 %) эмбрионов находились на стадии двух бластомеров, а 12 (8.6 %) – на стадии трех-четырёх бластомеров; в стрессовой группе 96 (83.5 %) и 19 (16.5 %) эмбрионов были на стадиях двух и трех-четырёх бластомеров соответственно. Хронический психосоциальный стресс не повлиял на фертильность самок мышей, что выражалось в отсутствии различий между контрольной ( $17.4 \pm 2.3$ ) и стрессовой ( $16.4 \pm 1.8$ ) группами ( $p > 0.05$ ; *t*-критерий Стьюдента), в среднем числе эмбрионов на самку на 2-й день развития *in vivo*.

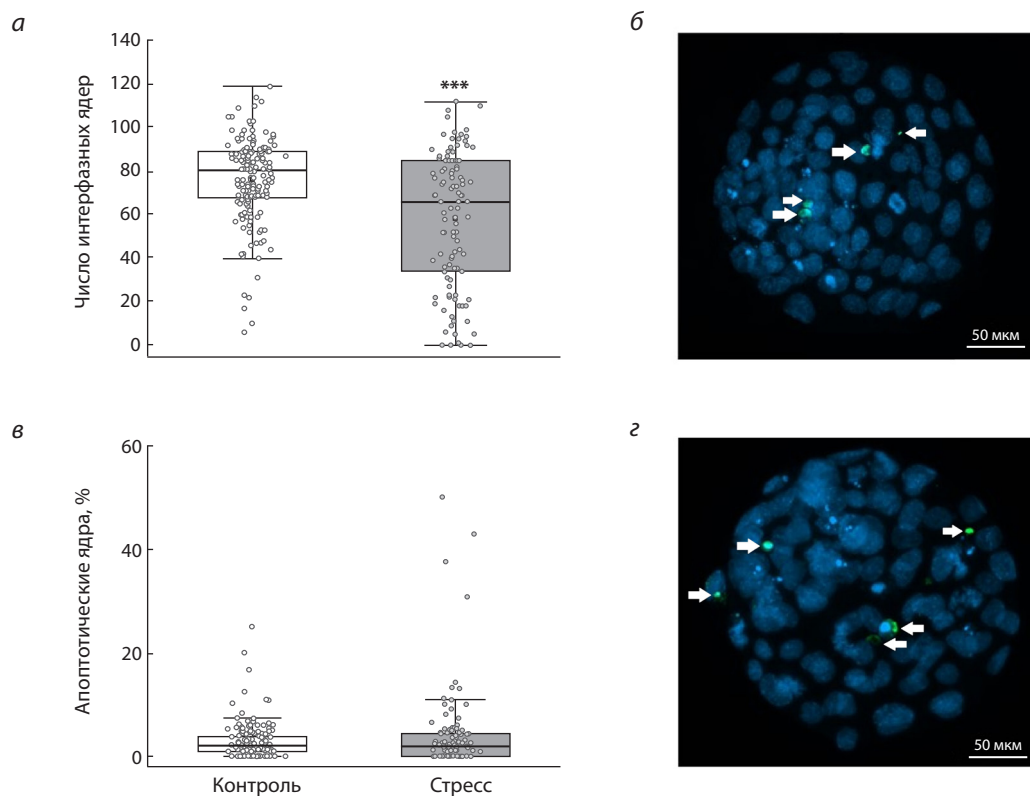
Динамика последующего развития эмбрионов *in vitro* была сопоставима в контрольной и стрессовой группах на протяжении всего периода культивирования (рис. S1). Дисперсионный анализ с повторными измерениями не выявил статистически значимого основного эффекта фактора «стресс» ( $F(1,13) = 1.20, p > 0.05$ ), фактора «длительность культивирования» ( $F(2,26) = 2.06, p > 0.05$ ), а также взаимодействия между факторами «стресс» и «длительность культивирования» ( $F(2,26) = 2.82, p > 0.05$ ).

При этом на позднем этапе культивирования *in vitro* (68 ч) в группе, подвергнутой хроническому стрессу, были обнаружены сдвиги в распределении стадий развития эмбрионов: доля бластоцист оказалась статистически значимо ниже, а доля морул – выше по сравнению с контрольной группой ( $p < 0.01$ ) (табл. 2).



**Рис. 4.** Влияние хронического психосоциального стресса на число интерфазных ядер (а) и долю апоптотических ядер (в) в эмбрионах мыши, оплодотворенных *in vitro*. Репрезентативные изображения эмбрионов контрольной (б) и стрессовой (г) групп после окрашивания DAPI (синим, ядра) и TUNEL (зеленым, апоптотические клетки, отмечено стрелками).

Данные представлены в виде медианы с 25 % и 75 % квантилями. \*\*\*  $p < 0.001$  (U-критерий Манна–Уитни). Число исследованных эмбрионов:  $n = 65$  в контрольной группе,  $n = 59$  в стрессовой группе.



**Рис. 5.** Влияние хронического психосоциального стресса на число интерфазных ядер (а) и долю апоптотических ядер (в) в эмбрионах мыши, оплодотворенных *in vivo*, после 68 ч культивирования *in vitro*. Репрезентативные изображения эмбрионов контрольной (б) и стрессовой (z) групп после окрашивания DAPI (синим, ядра) и TUNEL (зеленым, апоптотические клетки, отмечено стрелками).

Данные представлены в виде медианы с 25 % и 75 % квантилями. \*\*\*  $p < 0.001$  (U-критерий Манна–Уитни). Число исследованных эмбрионов:  $n = 166$  в контрольной группе,  $n = 108$  в стрессовой группе.

**Таблица 2.** Стадии развития эмбрионов, оплодотворенных *in vivo*, после 68 ч культивирования *in vitro*

Группа	Морулы	Бластоцисты		Остановка развития
		% (n)		
Контроль	1.7 (3)	94.2 (162)	4.1 (7)	
Стресс	8.8 (10)**	82.5 (94)**	8.8 (10)	

\*\*  $p < 0.01$  по сравнению с контрольной группой (критерий  $\chi^2$ ).

Последующий анализ эмбрионов, развивавшихся *in vitro* в течение 68 ч, показал статистически значимое снижение числа интерфазных ядер в группе стресса по сравнению с контролем ( $p < 0.001$ , U-критерий Манна–Уитни) (рис. 5, а). Этот результат свидетельствует о снижении пролиферативной активности клеток под влиянием стресса. В то же время доля апоптотических клеток в эмбрионах достоверно не различалась между группами ( $p > 0.05$ , U-критерий Манна–Уитни), что указывает на отсутствие выраженного влияния стресса на уровень программируемой клеточной гибели на данном этапе развития (см. рис. 5, в).

## Обсуждение

Ганс Селье одним из первых определил стресс с биологической точки зрения как неспецифическую реакцию организма на угрозу гомеостазу (Selye, 1950). Стрессоры, воспринимаемые как реальная или потенциальная опасность, запускают каскад нейроэндокринных реакций, ключевым звеном которых является активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) (James et al., 2023). В зависимости от продолжительности воздействия стрессоры могут вызывать развитие острого или хронического стресса (Godoy et al., 2018). Помимо временной характеристики, стрессоры классифицируют и по их природе: физиологические, связанные с угрозой физическому благополучию, и психологические, охватывающие психоэмоциональные и психосоциальные воздействия (Godoy et al., 2018). Известно, что повторяющийся или длительный хронический стресс способен приводить к развитию различных патологий (Kalisch et al., 2024).

При изучении влияния хронического психоэмоционального стресса на репродуктивную систему часто используют модели, созданные на мышах, такие как хронический непредсказуемый стресс и ограничение подвижности (Gao Y. et al., 2016; Левинсон и др., 2022). Эти стрессоры оказывают как психологическое, так и физическое воз-

действие на организм и могут вызывать нежелательные эффекты, включая потерю массы тела, что негативно сказывается на общем состоянии животных (Gao Y. et al., 2016; Furman et al., 2022). В некоторых работах в качестве модели психоэмоционального стресса используют предъявление мышам хищника (голодного кота), что создает чрезмерное психогенное воздействие, обусловленное потенциальной угрозой жизни (Liu et al., 2012). Между тем стрессовые воздействия, с которыми сталкивается человек в условиях мегаполиса, не связаны с непосредственной угрозой жизни и имеют в большинстве своем психосоциальную природу, тогда как физические стрессоры являются менее актуальными (Orquiza, 2024).

В условиях современной городской среды у человека могут одновременно наблюдаться дефицит значимых социальных связей и обилие поверхностных или нежелательных контактов, возникающих из-за высокой плотности населения и ограниченной приватности (Hammoud et al., 2021; Zhang Z. et al., 2023). Такое сочетание факторов усиливает переживание одиночества и социального стресса, что подтверждается данными о связи переполненности городских пространств с повышением физиологических стресс-реакций (Lederbogen et al., 2011). Чередование периодов социальной изоляции и вынужденной вовлеченности в интенсивное социальное взаимодействие может усугублять психоэмоциональную нагрузку и оказывать негативное влияние на психофизиологическое состояние человека (Hawkey, Cascioppo, 2010; Lederbogen et al., 2011). Исследования на млекопитающих показывают, что увеличение плотности популяции, ведущее к скученности, оказывает выраженное влияние на репродуктивные процессы (Suvogov, 2021).

Хотя на лабораторных животных изучали как социальную изоляцию, так и скученность, эти два фактора никогда не исследовали в комбинации (Gavrilov et al., 2022). В настоящем исследовании мы использовали модель, основанную на чередовании периодов изоляции и скученности, ранее апробированную на крысах (Gadek-Michalska et al., 2019) и адаптированную нами для самок мышей (Лебедева и др., 2024; Igonina et al., 2024a, b). В отличие от традиционных моделей стресса, данная модель представляется более релевантной социальным условиям, с которыми сталкиваются женщины в современном мегаполисе (Ochnik et al., 2024; Orquiza, 2024).

Согласно полученным нами результатам, чередование периодов изоляции и скученности у самок мышей сопровождается повышением уровня кортикостерона в крови, что подтверждает эффективность этой модели для индукции стресса. Психосоциальный стресс не нарушал созревание ооцитов *in vitro* и не влиял на их способность к оплодотворению. Ранее нами было показано, что в условиях *in vivo* хронический психосоциальный стресс приводит к снижению качества и степени зрелости ооцитов, накоплению в них активных форм кислорода и усилению апоптоза в кумулюсных клетках (Лебедева и др., 2024; Igonina et al., 2024b). Выраженное влияние стресса на созревание ооцитов *in vivo* при его отсутствии *in vitro*, вероятно, объясняется тем, что в культуральной среде нет

физиологического микроокружения, необходимого для передачи стрессового сигнала. Известно, что это микроокружение, включающее клетки фолликула, паракринные и эндокринные сигналы, необходимо для нормального созревания ооцита *in vivo* (Gilchrist et al., 2004; Yeo et al., 2009). Мы предполагаем, что стресс в первую очередь нарушает именно эти коммуникационные пути (Huang, Zeng, 2021; Igonina et al., 2024a). Поскольку прямое влияние стресса на ооцит, по-видимому, менее значительно, чем его опосредованные эффекты через фолликулярные клетки и гормональный фон (Prasad et al., 2016), в условиях *in vitro*, где системное влияние минимизировано, ооциты могут сохранять компетентность даже после предшествующего стрессового воздействия на организм.

Исследования на других моделях показывают, что хронический стресс вызывает схожие нарушения фолликулогенеза, ведущие к ухудшению качества ооцитов, созревающих *in vivo*. Содержание животных в условиях скученности сопровождалось повышением уровней кортикостерона и ангиотензина II, нарушением гормонального баланса, индукцией апоптоза в гранулезных клетках и снижением овариального резерва (Kim, You, 2022). На фоне стресса, связанного с ограничением подвижности, наблюдались нарушения мейоза и гибель ооцитов, что приводило к снижению овариального резерва (Jiang et al., 2023), а также увеличению числа аномальных ооцитов (Tsuji et al., 2021). Кроме того, при этом виде стресса в ооцитах нарушалась морфология мейотического веретена (Sun et al., 2018) и снижался их потенциал развития как *in vitro*, так и *in vivo* (Zhang S.Y. et al., 2011; Wu X.F. et al., 2015; Zhao et al., 2020). Хронический непредсказуемый стресс оказывал аналогичное воздействие, вызывая снижение овариального резерва (Gao L. et al., 2020), ухудшение качества и уменьшение числа ооцитов (Wu L.M. et al., 2012a, b), в отдельных случаях – ановуляцию (Kala, Nivsarkar, 2016), а также нарушая пролиферацию гранулезных клеток и ускоряя их старение (Sun et al., 2021; Ma et al., 2024).

Основным системным звеном, опосредующим эффекты хронического стресса, является активация ГГНС и устойчивое повышение уровня глюкокортикоидов в крови (James et al., 2023). В литературе до последнего времени имелись противоречивые данные о том, влияют ли глюкокортикоиды непосредственно на ооциты (Bhaumik et al., 2023), но недавно было показано, что у мышей глюкокортикоидные рецепторы (GR) на ооцитах отсутствуют (Cincotta et al., 2024). Между тем хорошо документировано, что их созревание чувствительно к повышенному уровню этих гормонов через опосредованное воздействие на соматические клетки фолликула, включая гранулезные и кумулюсные клетки, экспрессирующие GR (Bhaumik et al., 2023; Cincotta et al., 2024). Действие глюкокортикоидов реализуется преимущественно через классический геномный путь, включающий связывание с цитоплазматическим рецептором GR, его транслокацию в ядро и последующую регуляцию транскрипции, а также посредством быстрых негеномных и изоформ-специфичных механизмов, определяющих сложный и тканеспецифичный ответ клетки (Bhaumik et al., 2023).

Кроме того, активация ГГНС подавляет гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось, в том числе воздействуя на уровне гипоталамуса и гипофиза (Bhaumik et al., 2023), что приводит к снижению синтеза половых гормонов и нарушению нормального гормонального фона, необходимого для фолликулогенеза (Kalantaridou et al., 2004; Whirlledge, Cidlowski, 2013). Важно отметить, что в настоящем исследовании использовалась гормональная стимуляция суперовуляции, которая, вероятно, могла компенсировать данный дефицит, нивелируя этот путь влияния стресса. Однако, как показывают наши и другие данные, стресс продолжает негативно влиять на ооциты и через иные механизмы, прежде всего через прямое нарушение локального овариального микроокружения, что проявляется в индукции апоптоза гранулезных клеток и изменении секреции паракринных факторов (Prasad et al., 2016; Лебедева и др., 2024; Igolina et al., 2024a). Ключевым звеном в этом процессе является воздействие глюкокортикоидов на соматические клетки фолликула (Bhaumik et al., 2023; Cincotta et al., 2024).

Таким образом, глюкокортикоидные сигналы изменяют метаболизм соматических клеток фолликула, секрецию локальных регуляторных факторов и окислительно-восстановительный статус, что, в свою очередь, приводит к изменению цитоплазматической среды ооцита, включая процессы накопления материнских мРНК, белков и эпигенетических ферментов (Wu X.F. et al., 2015; Joseph, Whirlledge, 2017; Sun et al., 2018). Возникающий при стрессе дефицит метаболической и гормональной поддержки со стороны фолликулярного эпителия создает неоптимальные условия для заключительных этапов созревания ооцита.

Важно отметить, что наряду с опосредованным влиянием через соматические клетки продемонстрирована и прямая чувствительность ооцитов к некоторым стрессовым сигналам, например, к кортикотропин-рилизинг-фактору (Zaidan et al., 2013). Однако вклад этого пути, по-видимому, существенно меньше, чем комплексного воздействия, реализуемого через изменение фолликулярного микроокружения.

Результаты нашего исследования показали, что эмбрионы, полученные от стрессированных самок, характеризуются снижением числа клеток в бластоцистах независимо от способа оплодотворения, а в случае оплодотворения *in vivo* – и задержкой достижения этой стадии. Параметры «время достижения стадии бластоцисты» и «число клеток в бластоцисте» являются ключевыми индикаторами преимплантационного развития у млекопитающих (Ajduk, Zernicka-Goetz, 2012). Снижение числа клеток, в частности, может свидетельствовать о замедлении темпов дробления и раннего развития эмбрионов в целом (Nishizono et al., 2017).

Важнейшим аспектом настоящего исследования является то, что снижение числа клеток в бластоцистах наблюдалось независимо от того, произошло ли оплодотворение *in vivo* или было проведено экстракорпорально с использованием ооцитов, изъятых из стресс-измененного

микроокружения, но дозревших *in vitro* в контролируемых условиях. Эти результаты подтверждают выдвинутую ранее гипотезу о том, что вызванные стрессом изменения в транскриптоме ооцитов проявляются в эмбрионах, развившихся из этих ооцитов (Roth, 2018). Представляется вероятным, что стрессовое воздействие на ранних стадиях фолликулогенеза приводит к стойким функциональным изменениям ооцитов, обусловленным, в частности, их эпигенетическим перепрограммированием.

Действительно, наиболее ранние преимплантационные этапы развития эмбрионов млекопитающих критически зависят от накопленных в ооцитах «материнских» мРНК и белков, синтез которых завершается до оплодотворения (Wang et al., 2019; Kojima et al., 2025). Именно эти материнские транскрипты обеспечивают подготовку активации зиготического генома и быстрые циклы деления на ранних стадиях дробления зародыша, до момента, когда собственный транскриптом зародыша начинает управлять развитием (Wang et al., 2019; Kojima et al., 2025). Индуцированные стрессом изменения в количестве, составе или функциональной активности этих молекул способны нарушать этот тонкий баланс, негативно влияя на репродуктивную успешность и последующие этапы эмбриогенеза (Roth, 2018). Этим можно объяснить феномен, наблюдаемый как в нашем, так и в других исследованиях: снижение числа клеток в бластоцистах у стрессированных самок и замедление их развития при отсутствии видимых морфологических дефектов в ооцитах (Liu et al., 2012; Casillas et al., 2021).

Гипотеза о том, что воздействия на ооцит до оплодотворения могут программировать развитие эмбриона, по-видимому, достаточно универсальна, поскольку подтверждается исследованиями не только на млекопитающих (Roth, 2018), но и на рыбах (Li et al., 2012). Воздействие кортизола на ооциты рыб до оплодотворения приводит к устойчивым изменениям транскриптома эмбрионов и модулирует их рост (Li et al., 2012). Важно отметить, что у млекопитающих, в отличие от рыб, этот механизм, по-видимому, является опосредованным. Поскольку ооциты мыши не экспрессируют классические глюкокортикоидные рецепторы (Cincotta et al., 2024), стрессовый сигнал, вероятно, сначала нарушает функцию соматических клеток фолликула, что, в свою очередь, создает условия для латентного перепрограммирования развивающейся гаметы.

Таким образом, наши результаты демонстрируют, что хронический психосоциальный стресс, опосредованный активацией ГГНС и нарушением овариального микроокружения, вызывает функциональное перепрограммирование ооцитов. Не затрагивая их морфологию, это перепрограммирование предопределяет снижение качества и замедление развития эмбрионов. Выявленный механизм предоставляет биологическое обоснование для наблюдаемых в клинике ассоциаций между стрессом и снижением эффективности ВРТ (Koumparou et al., 2021; Abdoli et al., 2025; Lu et al., 2025). Несмотря на существующие противоречия в эпидемиологических данных, что может быть связано с трудностями объективной оценки стресс-

са (Zanettoullis et al., 2024; Hu et al., 2025), наша работа указывает на то, что хроническое стрессовое воздействие способно формировать латентный дефект ооцитов, потенциально влияющий на успешность репродуктивных технологий.

## Заключение

Наше исследование подтверждает гипотезу о негативном влиянии хронического психосоциального стресса на репродуктивную функцию и предоставляет экспериментальную основу для интерпретации клинических данных. Модель адекватно воспроизводит ключевые аспекты стресса, которому подвержены жители современного мегаполиса. Изучение эффектов психоэмоционального стресса в яичниках (Igonina et al., 2024a) и последствий этих изменений для развития ооцитов и ранних эмбрионов открывает перспективы для разработки новых стратегий коррекции этих изменений (Wu L.M. et al., 2012b; Igonina et al., 2024b). Интеграция подобных подходов в клиническую практику позволит формировать персонализированные стратегии лечения бесплодия, направленные на снижение негативного влияния хронического стресса и повышение эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий.

**Соблюдение этических стандартов.** Все исследования были одобрены Комитетом по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН (протокол № 143 от 15.03.2023) и соответствовали требованиям европейской Директивы 2010/63/ЕС по защите животных, используемых в научных целях.

## Список литературы / References

Лебедева Д.А., Игонина Т.Н., Брусенцев Е.Ю., Шавшаева Н.А., Амстиславский С.Я. Влияние гонадотропной стимуляции яичников в условиях хронического психосоциального стресса на качество ооцитов мышей. *Российский физиологический журнал*. 2024;110(6):930-944. doi 10.31857/S0869813924060044 [Lebedeva D.A., Igonina T.N., Brusentsev E.Yu., Shavshaeva N.A., Amstislavskij S.Ya. Effects of ovarian stimulation with gonadotropins in the conditions of chronic psychosocial stress on the quality of murine oocyte. *Russian Journal of Physiology*. 2024;110(6):930-944. doi 10.31857/S0869813924060044 (in Russian)]

Левинсон А.Л., Игонина Т.Н., Рожкова И.Н., Брусенцев Е.Ю., Амстиславский С.Я. Психоэмоциональный стресс, фолликулогенез и репродуктивные технологии: клинические и экспериментальные данные. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022; 26(5):431-441. doi 10.18699/VJGB-22-53 [Levinson A.L., Igonina T.N., Rozhkova I.N., Brusentsev E.Yu., Amstislavskij S.Ya. Psycho-emotional stress, folliculogenesis, and reproductive technologies: clinical and experimental data. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed*. 2022;26(5): 431-441. doi 10.18699/VJGB-22-53]

Abdoli S., Gholami A.H., Masoumi S.Z., Najafi-Vosough R., Azimi M., Jenabi E., Aliabadi S., Soltanian A.R., Ghaleiha A., Pilehvari S. The association of anxiety and perceived stress with *in vitro* fertilization outcomes in infertile women: a cross-sectional study. *J Hum Reprod Sci*. 2025;18(1):16-22. doi 10.4103/jhrs.jhrs\_168\_24

Abdullah K.A.L., Atazhanova T., Chavez-Badiola A., Shivhare S.B. Automation in ART: paving the way for the future of infertility treatment. *Reprod Sci*. 2023;30(4):1006-1016. doi 10.1007/s43032-022-00941-y

Ajduk A., Zernicka-Goetz M. Advances in embryo selection methods. *F1000 Biol Rep*. 2012;4:11. doi 10.3410/B4-11

Bhaumik S., Lockett J., Cuffe J., Clifton V.L. Glucocorticoids and their receptor isoforms: roles in female reproduction, pregnancy, and foetal development. *Biology*. 2023;12(8):1104. doi 10.3390/biology12081104

Casillas F., Betancourt M., Juárez-Rojas L., Ducolomb Y., López A., Ávila-Quintero A., Zamora J., Ommati M.M., Retana-Márquez S. Chronic stress detrimentally affects *in vivo* maturation in rat oocytes and oocyte viability at all phases of the estrous cycle. *Animals (Basel)*. 2021;11(9):2478. doi 10.3390/ani11092478

Chambers G.M., Dyer S., Zegers-Hochschild F., de Mouzon J., Ishihara O., Banker M., Mansour R., Kupka M.S., Adamson G.D. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology, 2014. *Hum Reprod*. 2021;36(11):2921-2934. doi 10.1093/humrep/deab198

Chatot C.L., Ziomek C.A., Bavister B.D., Lewis J.L., Torres I. An improved culture medium supports development of random-bred 1-cell mouse embryos *in vitro*. *J Reprod Fertil*. 1989;86(2):679-688. doi 10.1530/jrf.0.0860679

Cincotta S.A., Richardson N., Foecke M.H., Laird D.J. Differential susceptibility of male and female germ cells to glucocorticoid-mediated signaling. *eLife*. 2024;12:RP90164. doi 10.7554/eLife.90164

Cox C.M., Thoma M.E., Tchangelova N., Mburu G., Bornstein M.J., Johnson C.L., Kiarie J. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Open*. 2022;2022(4):hoac051. doi 10.1093/hropen/hoac051

Furman O., Tsoory M., Chen A. Differential chronic social stress models in male and female mice. *Eur J Neurosci*. 2022;55(9-10): 2777-2793. doi 10.1111/ejn.15481

Gadek-Michalska A., Tadeusz J., Bugajski A., Bugajski J. Chronic isolation stress affects subsequent crowding stress-induced brain Nitric Oxide Synthase (NOS) isoforms and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) axis responses. *Neurotox Res*. 2019;36(3):523-539. doi 10.1007/s12640-019-00067-1

Gao L., Zhao F., Zhang Y., Wang W., Cao Q. Diminished ovarian reserve induced by chronic unpredictable stress in C57BL/6 mice. *Gynecol Endocrinol*. 2020;36(1):49-54. doi 10.1080/09513590.2019.1631274

Gao Y., Chen F., Kong Q.Q., Ning S.F., Yuan H.J., Lian H.Y., Luo M.J., Tan J.H. Stresses on female mice impair oocyte developmental potential: effects of stress severity and duration on oocytes at the growing follicle stage. *Reprod Sci*. 2016;23(9):1148-1157. doi 10.1177/1933719116630416

Gavrilov V.V., Onufriev M.V., Moiseeva Y.V., Alexandrov Y.I., Gulyaeva N.V. Chronic social isolation stress and crowding in rats have different effects on learning an operant behavior and the state of the hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system. *Neurosci Behav Physiol*. 2022;52(5):698-704. doi 10.1007/s11055-022-01295-3

Gilchrist R.B., Ritter L.J., Armstrong D.T. Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. *Anim Reprod Sci*. 2004;82-83:431-446. doi 10.1016/j.anireprosci.2004.05.017

Godoy L.D., Rossignoli M.T., Delfino-Pereira P., Garcia-Cairasco N., de Lima Umeoka E.H. A comprehensive overview on stress neurobiology: basic concepts and clinical implications. *Front Behav Neurosci*. 2018;12:127. doi 10.3389/fnbeh.2018.00127

Hammoud R., Tognin S., Bakolis I., Ivanova D., Fitzpatrick N., Burgess L., Smythe M., Gibbons J., Davidson N., Mechelli A. Lonely in a crowd: investigating the association between overcrowding and loneliness using smartphone technologies. *Sci Rep*. 2021;11(1):24134. doi 10.1038/s41598-021-03398-2

Hawkey L.C., Cacioppo J.T. Loneliness matters: a theoretical and empirical review of consequences and mechanisms. *Ann Behav Med*. 2010;40(2):218-227. doi 10.1007/s12160-010-9210-8

Hu Y., Wang W., Ma W., Wang W., Ren W., Wang S., Fu F., Li Y. Impact of psychological stress on ovarian function: insights, mechanisms

- and intervention strategies (Review). *Int J Mol Med*. 2025;55(2):34. doi 10.3892/ijmm.2024.5475
- Huang J., Zeng H. The influence of environmental factors on ovarian function, follicular genesis, and oocyte quality. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1300:41-62. doi 10.1007/978-981-33-4187-6\_3
- Igonina T., Lebedeva D., Tsybko A., Rozhkova I., Babochkina T., Levinson A., Amstislavsky S. Chronic psychosocial stress affects insulin-like growth factor 1 and its receptors in mouse ovaries. *Reprod Fertil Dev*. 2024a;36:RD24101. doi 10.1071/RD24101
- Igonina T.N., Lebedeva D.A., Shavshaeva N.A., Brusentsev E.Yu., Levinson A., Amstislavsky S. Effects of in vivo administration of insulin-like growth factor-1 on oocyte and embryo development in mice under chronic psychosocial stress. *J Evol Biochem Phys*. 2024b;60:1725-1740. doi 10.1134/S0022093024050065
- James K.A., Stromin J.I., Steenkamp N., Combrinck M.I. Understanding the relationships between physiological and psychosocial stress, cortisol and cognition. *Front Endocrinol*. 2023;14:1085950. doi 10.3389/fendo.2023.1085950
- Jeon H., Choi Y., Brännström M., Akin J.W., Curry T.E., Jo M. Cortisol/glucocorticoid receptor: a critical mediator of the ovulatory process and luteinization in human periovulatory follicles. *Hum Reprod*. 2023;38(4):671-685. doi 10.1093/humrep/dead017
- Jiang Y., Xu J., Tao C., Lin Y., Lin X., Li K., Liu Q., ... Sun Y., Zhang F., Kang Y., Xu C., Zhang L. Chronic stress induces meiotic arrest failure and ovarian reserve decline via the cAMP signaling pathway. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1177061. doi 10.3389/fendo.2023.1177061
- Joseph D.N., Whirledge S. Stress and the HPA axis: balancing homeostasis and fertility. *Int J Mol Sci*. 2017;18(10):2224. doi 10.3390/ijms18102224
- Kala M., Nivsarkar M. Role of cortisol and superoxide dismutase in psychological stress induced anovulation. *Gen Comp Endocrinol*. 2016;225:117-124. doi 10.1016/j.ygcen.2015.09.010
- Kalantaridou S.N., Makrigiannakis A., Zoumakis E., Chrousos G.P. Reproductive functions of corticotropin-releasing hormone. Research and potential clinical utility of antalarmins (CRH receptor type 1 antagonists). *Am J Reprod Immunol*. 2004;51(4):269-274. doi 10.1111/j.1600-0897.2004.00155.x
- Kalisch R., Russo S.J., Müller M.B. Neurobiology and systems biology of stress resilience. *Physiol Rev*. 2024;104(3):1205-1263. doi 10.1152/physrev.00042.2023
- Kim J., You S. High housing density-induced chronic stress diminishes ovarian reserve via granulosa cell apoptosis by angiotensin II overexpression in mice. *Int J Mol Sci*. 2022;23(15):8614. doi 10.3390/ijms23158614
- Kojima M.L., Hoppe C., Giraldez A.J. The maternal-to-zygotic transition: reprogramming of the cytoplasm and nucleus. *Nat Rev Genet*. 2025;26(4):245-267. doi 10.1038/s41576-024-00792-0
- Koumparou M., Bakas P., Pantos K., Economou M., Chrousos G. Stress management and In Vitro Fertilization (IVF): a pilot randomized controlled trial. *Psychiatriki*. 2021;32(4):290-299. doi 10.22365/jpsych.2021.029
- Lederbogen F., Kirsch P., Haddad L., Streit F., Tost H., Schuch P., Wüst S., Pruessner J.C., Rietschel M., Deuschle M., Meyer-Lindenberg A. City living and urban upbringing affect neural social stress processing in humans. *Nature*. 2011;474(7352):498-501. doi 10.1038/nature10190
- Li M., Leatherland J.F., Vijayan M.M., King W.A., Madan P. Glucocorticoid receptor activation following elevated oocyte cortisol content is associated with zygote activation, early embryo cell division, and IGF system gene responses in rainbow trout. *J Endocrinol*. 2012;215(1):137-149. doi 10.1530/JOE-12-0030
- Liu Y.X., Cheng Y.N., Miao Y.L., Wei D.L., Zhao L.H., Luo M.J., Tan J.H. Psychological stress on female mice diminishes the developmental potential of oocytes: a study using the predatory stress model. *PLoS One*. 2012;7(10):e48083. doi 10.1371/journal.pone.0048083
- Lu Q., Cheng Y., Zhou Z., Fan J., Chen J., Yan C., Zeng X., Yang J., Wang X. Effects of emotions on IVF/ICSI outcomes in infertile women: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2025;42(4):1083-1099. doi 10.1007/s10815-025-03388-7
- Ma J., Wang L., Yang D., Luo J., Gao J., Wang J., Guo H., Li J., Wang F., Wu J., Hu R. Chronic stress causes ovarian fibrosis to impair female fertility in mice. *Cell Signal*. 2024;122:111334. doi 10.1016/j.cellsig.2024.111334
- Nishizono H., Uno K., Abe H. Cleavage speed and blastomere number in DBA/2J compared with C57BL/6J mouse embryos. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2017;56(1):11-17
- Ochnik D., Buława B., Nagel P., Gachowski M., Budziński M. Urbanization, loneliness and mental health model – a cross-sectional network analysis with a representative sample. *Sci Rep*. 2024;14(1):24974. doi 10.1038/s41598-024-76813-z
- Orquiza J.C. Self-stress: a new perspective on stress and moral disorders of civilization. *J Org Psychol*. 2024;24(1). doi 10.33423/jop.v24i1.6885
- Prasad S., Tiwari M., Pandey A.N., Shrivastav T.G., Chaube S.K. Impact of stress on oocyte quality and reproductive outcome. *J Biomed Sci*. 2016;23:36. doi 10.1186/s12929-016-0253-4
- Quinn P., Kerin J.F., Warnes G.M. Improved pregnancy rate in human in vitro fertilization with the use of a medium based on the composition of human tubal fluid. *Fertil Steril*. 1985;44(4):493-498. doi 10.1016/s0015-0282(16)48918-1
- Roth Z. Stress-induced alterations in oocyte transcripts are further expressed in the developing blastocyst. *Mol Reprod Dev*. 2018;85(11):821-835. doi 10.1002/mrd.23045
- Selye H. Stress and the general adaptation syndrome. *Br Med J*. 1950;1(4667):1383-1392. doi 10.1136/bmj.1.4667.1383
- Shindo M., Miyado K., Kang W., Fukami M., Miyado M. Efficient superovulation and egg collection from mice. *Bio Protoc*. 2022;12(11):e4439. doi 10.21769/BioProtoc.4439
- Sun J., Guo Y., Zhang Q., Bu S., Li B., Wang Q., Lai D. Chronic restraint stress disturbs meiotic resumption through APC/C-mediated cyclin B1 excessive degradation in mouse oocytes. *Cell Cycle*. 2018;17(13):1591-1601. doi 10.1080/15384101.2018.1471316
- Sun J., Guo Y., Fan Y., Wang Q., Zhang Q., Lai D. Decreased expression of IDH1 by chronic unpredictable stress suppresses proliferation and accelerates senescence of granulosa cells through ROS activated MAPK signaling pathways. *Free Radic Biol Med*. 2021;169:122-136. doi 10.1016/j.freeradbiomed.2021.04.016
- Suvorov A. Population numbers and reproductive health. *Endocrinology*. 2021;162(11):bqab154. doi 10.1210/endo/bqab154
- Tsuji A., Ikeda Y., Murakami M., Kitagishi Y., Matsuda S. d-Leucine protects oocytes from chronic psychological stress in mice. *Reprod Med Biol*. 2021;20(4):477-484. doi 10.1002/rmb2.12396
- Valsamakis G., Chrousos G., Mastorakos G. Stress, female reproduction and pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;100:48-57. doi 10.1016/j.psyneuen.2018.09.031
- Wang Y., Liu Q., Tang F., Yan L., Qiao J. Epigenetic regulation and risk factors during the development of human gametes and early embryos. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2019;20:21-40. doi 10.1146/annurev-genom-083118-015143
- Whirledge S., Cidlowski J.A. A role for glucocorticoids in stress-impaired reproduction: beyond the hypothalamus and pituitary. *Endocrinology*. 2013;154(12):4450-4468. doi 10.1210/en.2013-1652
- Wu L.M., Hu M.H., Tong X.H., Han H., Shen N., Jin R.T., Wang W., Zhou G.X., He G.P., Liu Y.S. Chronic unpredictable stress decreases expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in mouse ovaries: relationship to oocytes developmental potential. *PLoS One*. 2012a;7(12):e52331. doi 10.1371/journal.pone.0052331
- Wu L.M., Liu Y.S., Tong X.H., Shen N., Jin R.T., Han H., Hu M.H., Wang W., Zhou G.X. Inhibition of follicular development induced by chronic unpredictable stress is associated with growth and differentiation factor 9 and gonadotropin in mice. *Biol Reprod*. 2012b;86(4):121. doi 10.1095/biolreprod.111.093468

- Wu X.F., Yuan H.J., Li H., Gong S., Lin J., Miao Y.L., Wang T.Y., Tan J.H. Restraint stress on female mice diminishes the developmental potential of oocytes: roles of chromatin configuration and histone modification in germinal vesicle stage oocytes. *Biol Reprod.* 2015;92(1):13. doi 10.1095/biolreprod.114.124396
- Yeo C.X., Gilchrist R.B., Lane M. Disruption of bidirectional oocyte-cumulus paracrine signaling during in vitro maturation reduces subsequent mouse oocyte developmental competence. *Biol Reprod.* 2009;80(5):1072-1080. doi 10.1095/biolreprod.108.073908
- Zaidan H., Leshem M., Gaisler-Salomon I. Prereproductive stress to female rats alters corticotropin releasing factor type 1 expression in ova and behavior and brain corticotropin releasing factor type 1 expression in offspring. *Biol Psychiatry.* 2013;74(9):680-687. doi 10.1016/j.biopsych.2013.04.014
- Zanettoullis A.T., Mastorakos G., Vakas P., Vlahos N., Valsamakis G. Effect of stress on each of the stages of the IVF procedure: a systematic review. *Int J Mol Sci.* 2024;25(2):726. doi 10.3390/ijms25020726
- Zhai Q.Y., Wang J.J., Tian Y., Liu X., Song Z. Review of psychological stress on oocyte and early embryonic development in female mice. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):101. doi 10.1186/s12958-020-00657-1
- Zhang S.Y., Wang J.Z., Li J.J., Wei D.L., Sui H.S., Zhang Z.H., Zhou P., Tan J.H. Maternal restraint stress diminishes the developmental potential of oocytes. *Biol Reprod.* 2011;84(4):672-681. doi 10.1095/biolreprod.110.087890
- Zhang Z., Měchurová K., Resch B., Amegbor P., Sabel C.E. Assessing the association between overcrowding and human physiological stress response in different urban contexts: a case study in Salzburg, Austria. *Int J Health Geogr.* 2023;22(1):15. doi 10.1186/s12942-023-00334-7
- Zhao X.Y., Li Z.B., Yuan H.J., Han X., Wu J.S., Feng X.Y., Zhang M., Tan J.H. Restraint stress and elevation of corticotrophin-releasing hormone in female mice impair oocyte competence through activation of the tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) system. *Reprod Fertil Dev.* 2020;32(9):862-872. doi 10.1071/RD20002
- Zhou F.J., Cai Y.N., Dong Y.Z. Stress increases the risk of pregnancy failure in couples undergoing IVF. *Stress.* 2019;22(4):414-420. doi 10.1080/10253890.2019.1584181

---

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи. Поступила в редакцию 26.09.2025. После доработки 04.02.2026. Принята к публикации 05.02.2026