

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 612.8+612.646+591.513

Сравнительный анализ динамики моторного и пространственного обучения у животных, переживших пренатальную гипоксию

А.В. Граф^{*} , М.В. Маслова , А.С. Маклакова *Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12***e-mail: grafav@my.msu.ru*

Данные современной нейробиологии свидетельствуют о критической зависимости формирования нервной системы от условий внутриутробного развития. Гипоксия плода и/или новорожденного — одна из основных причин нарушений в развитии головного мозга, которые могут проявляться в более позднем возрасте в виде когнитивных расстройств, проблем с обучением, памятью и вниманием, движениями и эмоциями. В работе исследовали влияние пренатальной гипоксии, перенесенной в критические для развития и созревания мозга периоды, на способность белых крыс к моторному и пространственному обучению. Самцы, пережившие острую предродовую гипоксию, оказались наиболее чувствительными к ее воздействию, продемонстрировав в месячном возрасте как дефицит моторного обучения, воспроизведения и сохранения моторных навыков, так и ухудшение решения когнитивной задачи в Т-образном лабиринте. Острая гипоксия периода раннего органогенеза практически не оказала воздействия на способность животных перипубертатного возраста к моторному и пространственному обучению. Комплексное тестирование с использованием модифицированной методики обучения на вращающемся стержне позволяет более полно оценить последствия гипоксического повреждения мозга, что важно для ранней диагностики и разработки программ реабилитации.

Ключевые слова: пренатальная гипоксия, внутриутробное программирование, перипубертатный период, моторное обучение, пространственное обучение, нейропластичность

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-80-3-9

Введение

Современные экспериментальные и клинические исследования все чаще обращают внимание на феномен «пренатально обусловленных нарушений психического здоровья», объясняющий развитие нарушений и заболеваний нервной системы. В этой связи точное понимание нормального формирования мозга становится критически важным для изучения причин неврологических и когнитивных расстройств у взрослых, а также для анализа отклонений, выявляемых еще на этапе внутриутробного развития или у детей, родившихся раньше срока [1]. Течение беременности, родов и раннего постнатального периода имеет ключевое значение для нормального созревания и развития ребенка. Формирование нейронных цепей начинается на ранней стадии развития плода, демонстрируя пластичность на протяжении всей жизни человека. Интенсивность гистогенетических событий сильно варьирует в разные сроки беременности, во время которых развивающийся мозг характеризу-

ется повышенной чувствительностью к воздействию неблагоприятных эндогенных и внешних факторов [2]. К гипоксическим воздействиям развивающийся плод особенно уязвим в пренатальном периоде, когда происходит морфологическая дифференциация мозговых и нейронных структур, а также во время родов и перехода к самостоятельному дыханию [3]. Нарушения в виде снижения поступления кислорода (гипоксия), полной остановки газообмена в легких (асфиксия) или недостаточного кровоснабжения (ишемия) в эти критические периоды являются ведущими причинами перинатальной смертности и заболеваний в постнатальном периоде. Гипоксия плода и/или новорожденного является также одной из основных причин нарушений развития головного мозга, которые могут иметь долгосрочные последствия в виде когнитивных расстройств, проблем с обучением, памятью и вниманием, социальным взаимодействием, движениями и эмоциями [3, 4] и зависеть от пола и возраста [5]. Проблема как можно

более ранней диагностики даже минимальных когнитивных нарушений особенно актуальна ввиду роста числа случаев осложнений беременности, связанных с нарушением оксигенации плода, а также значительным увеличением числа поведенческих и ментальных расстройств.

Целью настоящего исследования была оценка влияния пренатальной гипоксии, перенесенной в критические периоды развития и созревания мозга, на способность животных к обучению с использованием аппаратно-программного комплекса «Ротарод» и Т-образного лабиринта.

Материалы и методы

Лабораторные животные. Все исследования проведены в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (European Science Foundation) и Хельсинской декларацией о гуманном отношении к животным и одобрены Комиссией по биоэтике МГУ. Белых крыс стока Wistar обоего пола содержали при температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $53 \pm 5\%$ с циклом 12/12 часов свет / темнота (свет 9:00 = ZT 0, свет выключен 21:00 = ZT 12) и свободным доступом к еде и воде.

Беременных самок крыс подвергали острой гипоксии по стандартной методике [6] на 10-е ($n = 8$) либо 20-е ($n = 8$) сут беременности, которые соответствуют периодам раннего органогенеза и предродовому. Первым днем беременности считали день обнаружения сперматозоидов в вагинальном мазке. Среднее время пребывания беременных самок в условиях острой гипоксии составило $141,6 \pm 30,0$ с на 10-е сут и $76,6 \pm 8,7$ с на 20-е сут беременности. Контрольных беременных самок ($n = 8$) гипоксии не подвергали.

В обучении участвовали три экспериментальные группы животных в возрасте 4–5 и 9–10 нед.: 1) контрольная – потомство самок, не подвергавшихся гипоксии во время беременности; 2) ПГ(10) – потомство, пережившее пренатальную гипоксию на 10-е сут гестации и 3) ПГ(20) – потомство, пережившее пренатальную гипоксию на 20-е сут гестации. Количество животных в экспериментальных группах указано в подписях к рисункам. В данной серии экспериментов на размер пометов и выживаемость потомства острая пренатальная гипоксия влияния не оказала. При рождении вес животных в группах ПГ(10) и ПГ(20) составлял $6,3 \pm 0,3$ г и $6,4 \pm 0,1$ г соответственно, и был значимо ниже веса контрольных животных, равного $7,2 \pm 0,1$ г.

Оценка моторного и пространственного обучения. Для моторного обучения использовали аппаратно-программный комплекс «Ротарод» (ООО «Нейроботикс», Россия). При помещении животного на вращающийся барабан установки обычно автоматически фиксируется время от начала движения до момента падения. Такой метод тестиро-

вания недостаточно чувствителен к слабым изменениям состояния организма, вызванным повреждением мозга, из-за чего некоторые функциональные нарушения могут остаться незамеченными. Чтобы, с одной стороны, точнее оценить влияние повреждений ЦНС на двигательные навыки и обучаемость, а с другой – сократить продолжительность эксперимента, в первые три дня тестирования применяли дополнительный протокол: если до завершения пятиминутного сеанса животное падало, его поднимали и снова помещали на вращающийся стержень. Кроме того, регистрировали не только латентный период до первого падения, но и другие параметры:

- продолжительность максимального пребывания животного на вращающемся стержне (время удержания, с);
- максимальное пройденное расстояние за один сеанс тестирования;
- общее количество падений, зафиксированных в течение пяти минут наблюдения;
- номер попытки с максимальным удержанием на вращающемся стержне.

Таким образом, модифицированная схема обучения животных с поэтапным увеличением сложности задания выглядела следующим образом:

- **1-е сут обучения** (28-е сут жизни) – фиксированная скорость вращения 10 об./мин, продолжительность 5 мин;
- **2-е сут обучения** (29-е сут жизни) – увеличение фиксированной скорости до 15 об./мин, продолжительность 5 мин;
- **3-и сут обучения** (30-е сут жизни) – адаптивный режим с плавным увеличением скорости от 5 до 20 об./мин за 1 мин и 4 мин с фиксированной скоростью 20 об./мин;
- **4-е (воспроизведение) и 11-е (сохранение навыка) сут** (31-е и 38-е сут жизни соответственно) – плавное увеличение скорости вращения с 5 до 30 об./мин в течение 5 мин; тестирование до падения животного, таким образом, в эти дни латентный период падения и максимальное время удержания на стержне совпадают.

Расширение спектра регистрируемых показателей повышает чувствительность теста к выявлению минимальных нарушений моторного обучения и помогает получить более полную картину изменений, происходящих в организме экспериментальных животных [7]. Кроме того, проводили проверку сохранности навыков моторного обучения у половозрелых животных (10-недельных) и сравнение их с показателями не обучавшихся ранее животных по схеме 4-х и 11-х сут тестирования. Животных, не проходивших предварительное поэтапное обучение в АПК «Ротарод», адаптировали к установке за 3 ч до тестирования в течение 4-х мин на скорости 15 об./мин.

Сочетание моторных и когнитивных тестов позволяет комплексно оценить последствия перина-

тального гипоксического повреждения мозга. Для оценки когнитивных функций — в частности, пространственного обучения — использовали Т-образный лабиринт с пищевым подкреплением (НПК Открытая Наука, Россия). Обучение 4–5-недельных животных проводили в течение 4-х последовательных суток, по 5 попыток с интервалом не менее 5 мин ежедневно. За сутки до начала обучения в течение 1 ч проводили адаптацию животных к установке, после чего вплоть до конца обучения содержали без еды со свободным доступом к воде. В ходе каждой попытки фиксировали: время принятия решения (время, затраченное на выбор правильного рукава лабиринта с приманкой), количество ошибок (выбор неверного рукава), время реакции — латентный период нахождения приманки. Также подсчитывали количество успешно выполненных попыток за каждый день обучения.

Статистическая обработка данных. Значения представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism, версия 10.4.1. (GraphPad Software Inc., Ла-Хойя, США). Нормальность распределения проверяли по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий между несколькими экспериментальными группами оценивали с помощью многофакторного дисперсионного анализа с апостериорным тестом (post-hoc) Сидака. В тех случаях, когда распределение было нормальным, для сравнения экспериментальных групп с повторными измерениями в разные дни использовали двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA (факторы «день» и «группа») с использованием дисперсионного анализа для повторных измерений с апостериорным тестом (post-hoc) Сидака. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

1. Влияние острой пренатальной гипоксии на показатели моторного обучения крыс перипубертатного возраста. У контрольных животных отмечалась четкая положительная динамика в течение периода обучения: увеличивался латентный период до первого падения (рис. 1, А и Д), количество падений по мере повторения теста уменьшалось практически до минимума (рис. 1, Б и Е), что может отражать снижение тревожности и повышение уверенности животных и свидетельствует о формировании у них устойчивого двигательного навыка. Максимальное время удержания на вращающемся стержне оставалось стабильным на протяжении всего периода обучения (рис. 1, В и Ж), но достигалось в более ранних попытках (рис. 1, Г и З), то есть животные быстро адаптировались к увеличению скорости вращения, демонстрируя гибкость сенсомоторной интеграции и хорошую способность к обучению. Анализ не выявил статистически значимых различий

между самцами и самками по основным параметрам теста, следовательно, при отсутствии патологических факторов базовые моторные способности и обучаемость у крыс обоих полов в перипубертатный период сопоставимы.

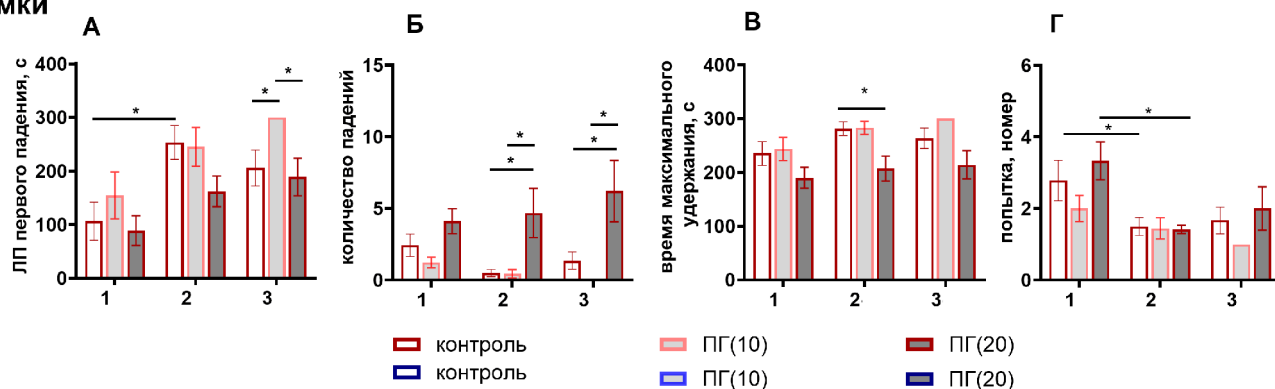
Проверка результатов обучения на 4-е и 11-е сут тестирования также не выявила межполовых различий (рис. 2). И самки, и самцы демонстрировали высокую способность к воспроизведению и сохранению моторных навыков: время удержания на стержне было близко к максимальному, зарегистрированному во время обучения, и составило у самок $222,8 \pm 28,5$ с на 4-е сут и $213 \pm 24,8$ с на 11-е сут; у самцов $254 \pm 14,6$ с и $241 \pm 14,7$ с соответственно. Таким образом, животные контрольной группы продемонстрировали поэтапную выработку двигательного навыка и высокую способность к его воспроизведению, сохранявшуюся и спустя неделю.

Животные обоих полов, подвергшиеся пренатальной гипоксии на раннем сроке гестации, демонстрировали схожую с контролем динамику обучения: снижение количества падений со второго дня почти до минимума, увеличение времени удержания до практически максимальных значений (рис. 1). В то же время острая пренатальная гипоксия в предродовой период вызывала выраженные нарушения обучения у животных обоих полов: время удержания на вращающемся стержне было в 1,6–1,8 раз ниже на всех этапах обучения и достоверно отличалось от контрольных значений у самцов; количество падений, напротив, изначально было в 1,7–3,5 раза выше и сохранялось достоверно более высоким на протяжении всего периода обучения, то есть адаптация к увеличению скорости вращения барабана практически отсутствовала. Животные обоих полов часто теряли равновесие при переходе на переменную скорость, что свидетельствует о дефиците сенсомоторной интеграции и нарушении формирования устойчивых двигательных паттернов (рис. 1).

Анализ параметров воспроизведения и сохранения моторных навыков на 4-е и 11-е сутки тестирования, соответственно, не выявил влияния фактора «день» ни у самок, ни у самцов. При этом самки всех экспериментальных групп продемонстрировали схожий результат обучения, показав сравнительно высокое время удержания на стержне: у ПГ(10) и ПГ(20), соответственно, $231,5 \pm 44,8$ с и $165,7 \pm 20,3$ с на 4-е сут; $189,3,5 \pm 42,6$ с и $161,4 \pm 21,2$ с на 11-е сут (рис. 2, А и Б).

У самцов значимым оказался фактор «группа» ($F(2,35) = 7,9$; $p = 0,002$). Самцы, пережившие пренатальную гипоксию в предродовой период, обучались хуже: латентный период падения, как и пройденная дистанция, у них был в среднем, в 2 раза ниже, чем в остальных экспериментальных группах (рис. 2, В и Г).

самки



самцы

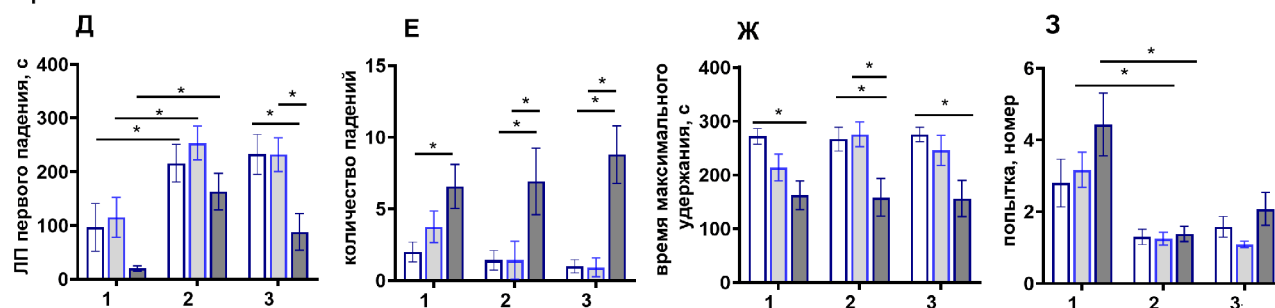


Рис. 1. Влияние острой пренатальной гипоксии на показатели моторного обучения у крыс перипубертатного возраста.

Условные обозначения: ПГ(10) – острая пренатальная гипоксия на 10-е сут гестации; ПГ(20) – острая пренатальная гипоксия на 20-е сут гестации. 1, 2, 3 – сут обучения, соответствующие 28–30-м сут постнатального развития.

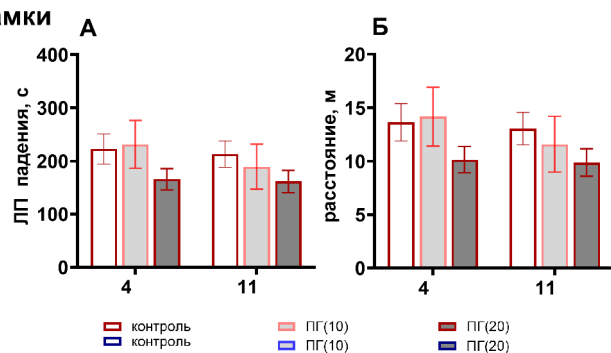
* – значимые различия ($p < 0,05$)

Контроль – самки: $n = 15$, самцы: $n = 12$

ПГ(10) – самки: $n = 11$, самцы: $n = 12$

ПГ(20) – самки: $n = 16$, самцы: $n = 14$

самки



самцы

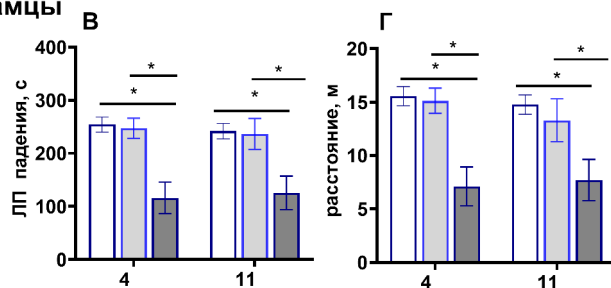


Рис. 2. Влияние острой пренатальной гипоксии на воспроизведение и сохранение навыков моторного обучения у крыс перипубертатного возраста.

Условные обозначения: 4, 11 – сут тестирования, соответствующие 31-м и 38-м сут постнатального развития.

* – значимые различия ($p < 0,05$)

Остальные условные обозначения и размер экспериментальных групп см. рис. 1.

К моменту тестирования в обеих экспериментальных группах сохранялось отставание животных по весу от контрольных, однако достоверных корреляций между весом крысят и временем их удержания на вращающемся стержне обнаружено не было: $R_s = -0,19$ для контрольной, $R_s = -0,22$ и $R_s = -0,04$ для групп ПГ(10) и ПГ(20).

2. Влияние острой пренатальной гипоксии на показатели пространственного обучения крыс перипубертатного возраста. Обучение в Т-образном лабиринте выявило для обоих полов значимость фактора «день» по всем исследуемым показателям и фактора «группа» по количеству ошибок, времени реакции и успешно выполненным попыткам. Животные обоих полов контрольной группы и группы ПГ(10) показали сходную динамику обучения: постепенное уменьшение времени принятия решения и времени выполнения реакции, сокращение количества ошибок и увеличение числа успешно выполненных попыток. Однако у самцов, переживших острую пренатальную гипоксию на 10-е сут гестации, в 1-е и 2-е сут обучения количество успешно выполненных попыток было, соответственно, в 1,3 ($p = 0,02$) и 1,2 раза ($p = 0,049$) ниже, чем в контрольной группе. При этом самки из этой же группы в 1-е сутки обучения тратили примерно в 2 раза ($p < 0,0001$) меньше времени на поиски приманки, нежели контрольные живот-

ные. Самки, пережившие пренатальную гипоксию в предродовой период, в целом имели схожую с контрольными животными динамику обучения, в то время как у самцов этой группы были выявлены явные нарушения обучения: достоверно, в 1,4–1,9 раз, более высокое число ошибок на протяжении практически всего периода обучения и увеличение времени выполнения пищедобывательной реакции в 1,7–2,3 раза, значимое во все дни обучения (рис. 3).

По результатам двух видов обучения именно детеныши мужского пола, пережившие острую предродовую гипоксию, оказались наиболее чувствительными к ее воздействию, продемонстрировав в месячном возрасте как дефицит обучения, воспроизведения и сохранения моторных навыков, так и ухудшение решения когнитивной задачи в лабиринте, в то время как гипоксия периода раннего органогенеза практически не повлияла на способность животных перипубертатного возраста к моторному и пространственному обучению.

3. Проверка сохранения навыков моторного обучения в перипубертатный период у взрослых крыс обоих полов. В возрасте 10 нед. у животных был проведен анализ сохранения моторных навыков обучения в тесте «Ротарод» и сравнение их с животными того же возраста, предварительно не обучавшимися на вращающемся стержне. Время

удержания на барабане и пройденное расстояние у всех самок, проходивших обучение в перипубертатном периоде, значимо не отличались от аналогичных показателей в половозрелом возрасте, а также от значений для животных, ранее не обучавшихся (рис. 4, А и Б).

У взрослых контрольных самцов время удержания на вращающемся стержне и пройденная дистанция, отражающие эффективность обучения, были значимо ниже, чем в возрасте 4–5 нед., а у самцов, не обучавшихся ранее, — еще ниже (рис. 4, В и Г). В то же время у половозрелых самцов, подвергнувшихся гипоксии на стадии органогенеза и обучавшихся в перипубертатном возрасте, отсутствует характерное для контрольных животных снижение параметров обучения. А у самцов, переживших предродовую гипоксию, различий в проявлении моторных навыков между перипубертатным и половозрелым возрастом не зафиксировано, независимо от того, обучались животные ранее или нет. Примечательно, что и в этом возрасте самцы, пережившие гипоксию внутриутробно, достоверно уступали в весе контрольным животным: $264,8 \pm 8,5$ г для ПГ(10) и $274,6 \pm 7,6$ г для ПГ(20) против $318,8 \pm 10,4$ г в контроле, однако достоверные корреляции между весом и временем удержания отсутствовали во всех экспериментальных группах.

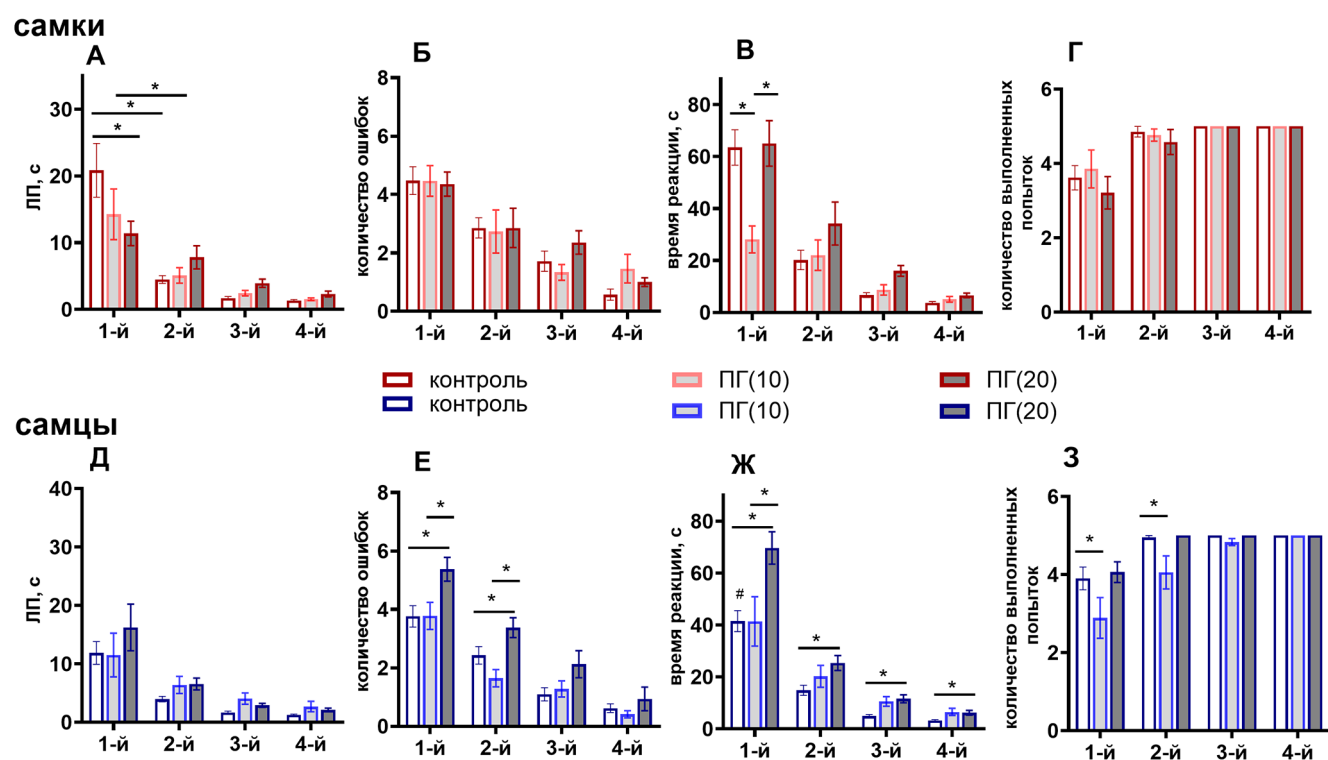


Рис. 3. Влияние острой пренатальной гипоксии на показатели пространственного обучения в Т-образном лабиринте у крыс перипубертатного возраста.

Условные обозначения: 1, 2, 3, 4 – сутки обучения, соответствующие 31–34-м сут постнатального развития. Остальные условные обозначения см. рис. 1.

* – значимые различия ($p < 0,05$)

Контроль – самки: $n = 19$, самцы: $n = 20$

ПГ(10) – самки: $n = 15$, самцы: $n = 18$

ПГ(20) – самки: $n = 16$, самцы: $n = 14$

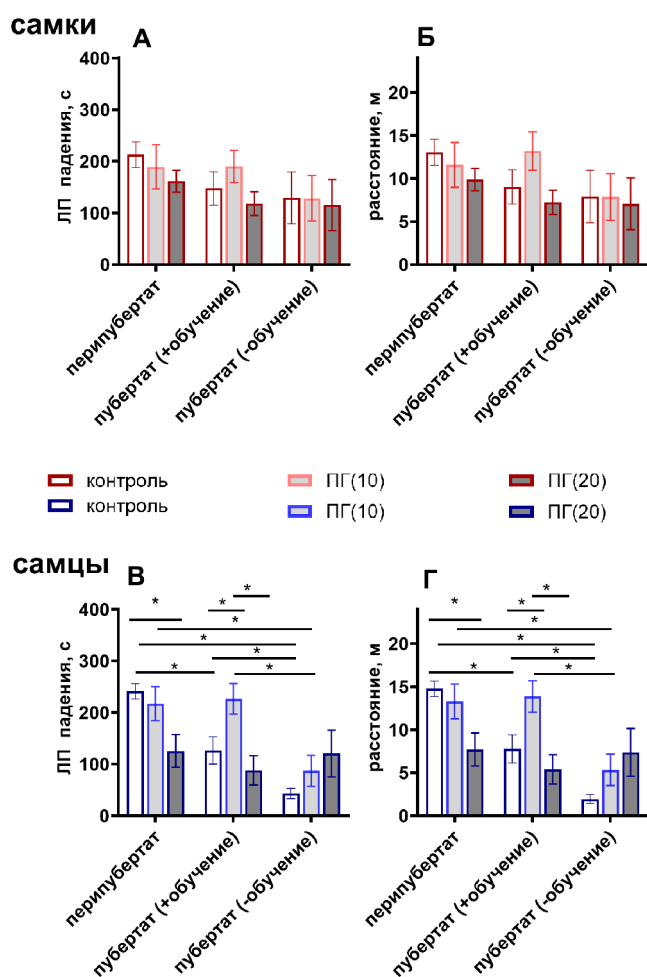


Рис. 4. Влияние предварительного обучения на сохранение моторных навыков, приобретенных в перипубертатном возрасте, у половозрелых крыс.

Условные обозначения: «+обучение» — животные, проходившие обучение в установке «Ротарод» в перипубертатный период; «-обучение» — животные, не проходившие обучение в установке «Ротарод» в перипубертатный период.

* — значимые различия между экспериментальными группами ($p < 0,05$)

Остальные условные обозначения и размер экспериментальных групп «+обучение» см. рис. 1.

Контроль («-обучение») — самки: $n = 11$, самцы: $n = 17$

ПГ(10) («-обучение») — самки: $n = 10$, самцы: $n = 10$

ПГ(20) («-обучение») — самки: $n = 10$, самцы: $n = 10$

Таким образом, самцы, пережившие острую гипоксию как в период раннего органогенеза, так и предродовый период, продемонстрировали сохранение навыков обучения, а в первом случае показали даже более высокую эффективность обучения, чем контрольные.

Обсуждение

Современные данные нейробиологии свидетельствуют о критической зависимости формирования нервной системы от условий внутриутробного развития, нарушения которого могут привести к «пренатально запрограммированным отклонениям психического здоровья» [8, 9]. Особый интерес представляет феномен временной из-

бирательности воздействия стрессорных факторов, когда один и тот же стрессор в разные периоды гестации может оказывать принципиально различное, зачастую противоположное, влияние на когнитивное развитие [10]. Настоящее исследование было сосредоточено на сравнительном анализе последствий острой пренатальной гипоксии, индуцированной на двух ключевых этапах органогенеза — раннем (10-е сут) и предродовом (20-е сут) периодах гестации. Оба периода относятся к критическим для развития нервной системы: 10-е сут внутриутробного развития у крыс (примерно 18-20-е сут эмбрионального развития у человека) соответствуют началу нейруляции, когда происходит закладка основных структур ЦНС, включая нервную трубку и зачатки гиппокампа; 20-е сут (примерно 24-я нед. эмбрионального развития человека) — стадии активного кортикогенеза. В пренатальном периоде мозг плода находится в стадии активной морфологической дифференциации, формируются ключевые нейрональные структуры и сети, что делает эмбрион особенно чувствительным к гипоксическим воздействиям. Гипоксия в это время может приводить к нарушению нейрогенеза и миелинизации [11], повреждению клеток гиппокампа и коры головного мозга [12], дисбалансу нейротрансмиттерных систем [13], а также повышению уровня катехоламинов и глюкокортикоидов, что негативно сказывается на формировании стресс-ответа и памяти [14].

Полученные результаты подтверждают, что даже кратковременное снижение поступления кислорода к плоду в критические периоды гестации способно вызывать долговременные негативные последствия для ЦНС потомства. Особенно чувствительными к гипоксическому воздействию животные оказываются в предродовый период, когда завершается формирование основных нейрональных связей и происходит подготовка к самостоятельной жизнедеятельности. При этом использование модифицированной методики моторного обучения с поэтапным усложнением задания и расширенным набором параметров регистрации позволило выявить минимальные нарушения моторной координации и обучаемости.

Перипубертатный период — переходная фаза развития между ювенильным периодом и половой зрелостью — связан с масштабной перестройкой мозга под влиянием начинающегося выделения половых гормонов. У грызунов и человека этот период является критическим для постнатального развития мозга, характеризуется значительными гормональными, физиологическими и поведенческими изменениями, а также уникальным балансом нейробиологической зрелости, когда уже завершается основное созревание гиппокампа и префронтальной коры, но сохраняется высокая нейропластичность, что создает, в том числе, идеальные условия для обучения.

Животные контрольной группы и пережившие острое кислородное голодание в период раннего органогенеза быстро осваивали задание в тесте «Ротарод», что свидетельствует о сохранности у вторых адаптационных механизмов и способности к формированию устойчивых двигательных паттернов. У крыс, перенесших гипоксию в предродовой период, особенно у самцов, был отмечен выраженный дефицит способности к обучению моторным навыкам, что указывает на нарушение сенсомоторной интеграции и может быть связано с повреждением мозжечка, базальных ганглиев и других структур, ответственных за координацию движений. Схожая картина, выявленная при обучении в лабиринте, может быть следствием повреждения также гиппокампа и фронтальной коры. Полученные результаты подтверждают важность учета пола и срока гестации при изучении структурных и функциональных изменений, обусловленных пережитой внутриутробно гипоксией.

В то же время пережившие предродовую гипоксию самцы, которые в перипубертате обучались заметно хуже контрольных, став половозрелыми, продемонстрировали стойкое сохранение приобретенных навыков, что может отражать активацию компенсаторных механизмов. Исходя из данных литературы, в качестве таких механизмов можно предположить, например, индукцию эпигенетических модификаций (метилование ДНК, гистонов и пр.), которые модулируют экспрессию генов, связанных с нейропластичностью [15] или активацию сиртуина 3 [13], для которого показана вовлеченность в нейропротекцию, долговременную потенциацию, оптимизацию энергетического метаболизма [16].

Самки всех экспериментальных групп, включая переживших предродовую гипоксию, продемонстрировали более высокую устойчивость к последствиям недостатка кислорода, что может быть связано с особенностями гормонального статуса, лучшей нейропротекцией и большей пластичностью женского мозга в раннем возрасте [17]. В перипубертатный период уровень половых гормонов начинает расти, хотя еще нет циклических колебаний, эстрогены уже усиливают когнитивные функции и обеспечивают стабильность когнитивных процессов; кроме того, эстрогены могут оказывать более выраженное антиоксидантное действие, нивелируя эффекты гипоксии [18].

Ключевую роль в нейропластичности мозга могут играть и половые различия в уровнях активности BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor). Известно, что по сравнению с самцами у самок крыс более высокий уровень BDNF в гиппокампе, коре головного мозга и миндалевидном теле [19], а клинические данные свидетельствуют о более высоком уровне BDNF в префронтальной коре [20]. Половые гормоны, в первую очередь эстроген, усиливают экспрессию BDNF [21], возможно, поэтому

именно у самок BDNF в большей степени связан с нейропротекцией и восстановлением после травм, в том числе после гипоксически-ишемического повреждения мозга, что объясняет их большую устойчивость к нейродегенеративным заболеваниям и лучшую способность к обучению в некоторых контекстах. Таким образом, повышенная нейропластичность у самок, вероятно, обусловлена комбинацией гормональных, структурных и молекулярных адаптаций, обеспечивающих большую гибкость синаптических сетей в ответ на изменения среды и стресс [22].

Проверка навыков моторного обучения через месяц после тестирования также показала, что у самок всех экспериментальных групп, проходивших обучение в перипубертатный период, показатели сохранялись на высоком уровне и во взрослом возрасте. Примечательно, что у перенесших гипоксию самцов моторные навыки также сохранялись, а у переживших кислородное голодание на этапе раннего органогенеза, были даже лучше, чем в контроле. Действительно, гипоксия на ранних стадиях развития может стимулировать пролиферацию нейральных предшественников в субвентрикулярной зоне и зубчатой извилине гиппокампа [23], что, в свою очередь, приводит к увеличению числа нейронов и улучшенной интеграции новых клеток в нейронные сети, а также коррелирует с повышением способности к обучению [24]. «Положительные эффекты» гипоксии раннего органогенеза могут быть связаны также с андроген-зависимыми механизмами нейропротекции, так как показано, что тестостерон и его метаболиты могут модулировать активность NMDA-рецепторов и BDNF-сигналинг, что усиливает синаптическую пластичность и приводит к улучшению когнитивных функций у взрослых [25].

Полученные данные демонстрируют, что пренатальная гипоксия, независимо от срока ее воздействия, приводит к задержке внутриутробного развития, в результате чего животные рождаются с меньшим весом. Если предположить, что гипоксия вызывает дефицит АТФ вследствие нарушения окислительного фосфорилирования в митохондриях и, соответственно, нарушение синтеза белка, то такие организмы изначально запрограммированы на экономию энергии. При выполнении сложной моторной задачи на вращающемся стержне поддерживать интенсивную мышечную работу сложнее более тяжелым особям, так как им требуется больше энергии для поддержания и перемещения своей массы. Поэтому среди животных с поврежденной энергетикой наиболее легкие, выполняя задачу на выносливость, могут продержаться на стержне дольше. Однако отсутствие достоверных корреляций между весом и параметрами моторного обучения в группах, подвергнутых кислородному голоданию, делает более вероятным воздействие пренатальной гипоксии на

области мозга, отвечающие за моторный контроль: базальные ганглии, мозжечок, моторную кору, что приводит к нарушению не силы, а координации и эффективности движений. При этом высокие результаты одной из экспериментальных групп, продемонстрированные при сохранении ранее приобретенных навыков, указывают на активацию компенсаторных нейропластических механизмов.

Заключение

В целом полученные результаты подчеркивают критическую роль сроков гипоксического воздействия и биологического пола в программировании нейрогенеза. В зависимости от сопутствующих факторов острая пренатальная гипоксия может оказывать как адаптогенное, так и патогенное влияние на способность животных к обучению в постнатальном периоде. Компенсаторные механизмы ранней пренатальной гипоксии у самцов открывают новые перспективы для исследования нейропластичности, а выявленные гендер-зависимые особенности, вероятно, имеют существенное кли-

ническое значение для оценки тяжести нарушений и разработки дифференцированных реабилитационных стратегий. Сочетание моторных и когнитивных тестов, позволяющее более полно оценить последствия гипоксического повреждения мозга, что особенно важно для ранней диагностики и разработки программ реабилитации, можно предложить в качестве целевой стратегии при изучении механизмов поведенческих нарушений.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова. Оборудование, использованное в исследовании, предоставлено МГУ в рамках федерального проекта «Развитие инфраструктуры науки и образования» (Соглашение №359). Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными и одобрены Комиссией по биоэтике МГУ (номер протокола 137-д, дата утверждения 11.11.2021). Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sidorova I.S., Nikitina N.A., Unanyan A.L., Ageev M.B. Development of the human fetal brain and the influence of prenatal damaging factors on the main stages of neurogenesis. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2022;22(1):35–44.
2. Kostovic I., Judas M. Embryonic and fetal development of the human cerebral cortex. *Brain Mapping*. 2015;2:167–175.
3. Piešová M., Mach M. Impact of perinatal hypoxia on the developing brain. *Physiol. Res*. 2020;69(2):199–213.
4. Orzeł A., Unrug-Bielawska K., Filipecka-Tyczka D., Berbeka K., Zeber-Lubecka N., Zielińska M., Kajdy A. Molecular pathways of altered brain development in fetuses exposed to hypoxia. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24(12):10401.
5. Mabry S., Wilson E.N., Bradshaw J.L., Gardner J.J., Fadeyibi O., Vera E Jr., Osikoya O., Cushen S.C., Karamichos D., Gouloupoulou S., Cunningham R.L. Sex and age differences in social and cognitive function in offspring exposed to late gestational hypoxia. *Biol. Sex Differ*. 2023;14(1):81.
6. Graf A., Trofimova L., Ksenofontov A., Baratova L., Bunik V. Hypoxic adaptation of mitochondrial metabolism in rat cerebellum decreases in pregnancy. *Cells*. 2020;9(1):139.
7. Shiotsuki H., Yoshimi K., Shimo Y., Funayama M., Takamatsu Y., Ikeda K., Takahashi R., Kitazawa S., Hattori N. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *J. Neurosci. Methods*. 2010;189(2):180–185.
8. Howard L.M., Khalifeh H. Perinatal mental health: a review of progress and challenges. *World Psychiatry*. 2020;19(3):313–327.
9. Gennaro S., Melnyk B.M., Szalacha L.A., Gibeau A.M., Hoying J., O'Connor C.M., Cooper A.R., Aviles M.M. Effects of two group prenatal care interventions on mental health: an RCT. *Am. J. Prev. Med*. 2024;66(5):797–808.
10. Lautarescu A., Craig M.C., Glover V. Prenatal stress: Effects on fetal and child brain development. *Int. Rev. Neurobiol*. 2020;150:17–40.
11. Wang B., Zeng H., Liu J., Sun M. Effects of prenatal hypoxia on nervous system development and related diseases. *Front. Neurosci*. 2021;15:755554.
12. Lu G., Rili G., Shuang M. Impact of hypoxia on the hippocampus: a review. *Medicine (Baltimore)*. 2025;104(12):e41479.
13. Graf A.V., Maslova M.V., Artiukhov A.V., Ksenofontov A.L., Aleshin V.A., Bunik V.I. Acute prenatal hypoxia in rats affects physiology and brain metabolism in the offspring, dependent on sex and gestational age. *Int. J. Mol. Sci*. 2022;23(5):2579.
14. Stratilov V., Potapova S., Safarova D., Tyulkova E., Vetrovoy O. Prenatal hypoxia triggers a glucocorticoid-associated depressive-like phenotype in adult rats, accompanied by reduced anxiety in response to stress. *Int. J. Mol. Sci*. 2024;25(11):5902.
15. Monteleone M.C., Pallarés M.E., Billi S.C., Antonelli M.C., Brocco M.A. In vivo and in vitro neuronal plasticity modulation by epigenetic regulators. *J. Mol. Neurosci*. 2018;65(3):301–311.
16. Xu H., Liu Y.-Y., Li L.-S., Liu Y.-S. Sirtuins at the crossroads between mitochondrial quality control and neurodegenerative diseases: structure, regulation, modifications, and modulators. *Aging Dis*. 2023;14(3):794–824.
17. McCarthy M.M., Nugent B.M., Lenz K.M. Neuroimmunology and neuroepigenetics in the establishment of sex differences in the brain. *Nat. Rev. Neurosci*. 2017;18(8):471–484.
18. Bale T.L., Epperson C.N. Sex differences and stress across the lifespan. *Nat. Neurosci*. 2015;18(10):1413–1420.
19. Bland ST, Schmid MJ, Der-Avakian A, Watkins LR, Spencer RL, Maier SF. Expression of c-fos and BDNF mRNA in subregions of the prefrontal cortex of male and female rats after acute uncontrollable stress. *Brain Res*. 2005;1051(1–2):90–99.
20. Hayley S., Du L., Littelljohn D., Palkovits M., Faludi G., Merali Z., Poulter M.O., Anisman H. Gender and brain regions specific differences in brain derived neuro-

trophic factor protein levels of depressed individuals who died through suicide. *Neurosci. Lett.* 2015;600:12–16.

21. Spencer-Segal J.L., Tsuda M.C., Mattei L., Waters E.M., Romeo R.D., Milner T.A., McEwen B.S., Ogasawa S. Estradiol acts via estrogen receptors alpha and beta on pathways important for synaptic plasticity in the mouse hippocampal formation. *Neuroscience*. 2012;202:131–146.

22. Hyer M.M., Phillips L.L., Neigh G.N. Sex differences in synaptic plasticity: hormones and beyond. *Front. Mol. Neurosci.* 2018;11:266.

23. Li G., Liu J., Guan Y., Ji X. The role of hypoxia in stem cell regulation of the central nervous system: From embryonic

development to adult proliferation. *CNS Neurosci. Ther.* 2021;27(12):1446–1457.

24. Herculano-Houzel S. Numbers of neurons as biological correlates of cognitive capability. *Curr. Opin. Behav. Sci.* 2017;16:1–7.

25. Spritzer M.D., Roy E.A. Testosterone and adult neurogenesis. *Biomolecules*. 2020;10(2):225.

Поступила в редакцию 20.06.2025

После доработки 02.10.2025

Принята в печать 30.10.2025

RESEARCH ARTICLE

The comparative analysis of motor and spatial learning dynamics in animals survived prenatal hypoxia

A.V. Graf*, M.V. Maslova, A.S. Maklakova

¹Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 1–12 Leninskie gory, 119234 Moscow, Russia

*e-mail: grafav@my.msu.ru

The data of modern neurobiology indicates a critical dependence of the nervous system formation upon the conditions of intrauterine development. Pregnancy, childbirth and the early postnatal period are of key importance for normal maturation of the nervous system. The developing fetus is especially vulnerable to the effects of adverse external and internal factors in periods of brain and neuronal structures morphological differentiation, during childbirth and the transition to independent breathing. Fetal and/or newborn hypoxia is considered one of the main causes of disorders in brain development, manifested later in form of cognitive impairments, problems with learning, memory and attention, social interactions, movements and emotions. The aim of the present study was to investigate the effect of prenatal hypoxia, suffered in periods critical for brain development and maturation, on the ability of white rats to motor and spatial learning. It was shown that males, survived acute late gestational hypoxia, turned out to be more sensitive to its effects, demonstrating at the age of one month both a deficit in learning, reproduction and maintenance of motor skills, and a failure in solving cognitive task in T-shaped maze. At the same time acute hypoxia of the early organogenesis period had practically no effect on the ability of peripubertal animals to motor and spatial learning. Therefore, comprehensive testing allows to assess the effects of hypoxic brain damage more completely, which is important for early diagnosis and the development of rehabilitation programs.

Keywords: perinatal hypoxia, intrauterine programming, peripubertal period, motor learning, spatial learning, neuroplasticity

Funding: The study was conducted under the state assignment of Lomonosov Moscow State University. The equipment used was provided by MSU within the framework of federal project “The development of infrastructure for science and education” (Agreement №359).

Сведения об авторах

Граф Анастасия Викторовна — канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: nastjushka@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3579-8089>

Маслова Мария Вадимовна — канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: maslova_masha@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8499-5433>

Маклакова Анастасия Сергеевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: a_maklakova@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8508-6231>