



УДК 612.648 + 612.65 + 615.214

EDN HBOOAF

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-60-71>

Пренатальное влияние буспилона в модели гипоксического стресса на пространственное обучение, память и физиологический ответ у взрослых самцов и самок крыс

И. П. Буткевич ^{✉1}, В. А. Михайленко ¹, Е. А. Вершинина ¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Ирина Павловна Буткевич, SPIN-код: 9248-2288, Scopus AuthorID: 7004037979, ORCID: 0000-0002-1201-9185, e-mail: irinabutkevich@yandex.ru

Виктор Анатольевич Михайленко, SPIN-код: 9111-0369, Scopus AuthorID: 7006438341, ORCID: 0000-0003-4221-7702, e-mail: viktormikhailenko@yandex.ru

Елена Андреевна Вершинина, SPIN-код: 1082-8759, Scopus AuthorID: 6701609543, ORCID: 0000-0002-8873-4409, e-mail: ver_elen@mail.ru

Для цитирования: Буткевич, И. П., Михайленко, В. А., Вершинина, Е. А. (2024) Пренатальное влияние буспилона в модели гипоксического стресса на пространственное обучение, память и физиологический ответ у взрослых самцов и самок крыс. *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 60–71. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-60-71> EDN HBOOAF

Получена 13 марта 2024; прошла рецензирование 7 апреля 2024; принята 11 апреля 2024.

Финансирование: Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН (№1023032400236-8-3.1.4).

Права: © И. П. Буткевич, В. А. Михайленко, Е. А. Вершинина (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Влияние анксиолитика и антидепрессанта буспилона (агонист серотонинергического 5-HT_{1A} рецептора), используемого для лечения тревожно-депрессивного состояния женщин во время беременности, на адаптивное поведение потомства является вопросом дискуссии. Изучение внутриутробного влияния сочетания буспилона и гипоксии, имеющего место в неонатальной клинике, на когнитивную сферу и стрессорный ответ, особенно у взрослых разнополых особей, важно для неонатологов в прогностическом аспекте. Мы впервые исследовали эффект хронического введения буспилона, умеренной острой нормобарической гипоксии и их взаимодействия в пренатальный период развития на пространственное обучение, память и реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГТАКС), а также массу тела у взрослых самцов и самок крыс. Каждый пренатальный фактор в отдельности не ухудшил способность к пространственному обучению и память у крыс обоего пола. Взаимодействие буспилона и гипоксии ослабило выявленное улучшенное влияние гипоксии на пространственное обучение у самцов и эффективность пространственной долговременной памяти у самок, что сочеталось у последних со снижением стрессорного ответа кортикостерона в плазме крови. У самцов во влиянии пренатальных воздействий не было обнаружено изменений в эффективности пространственной памяти и реактивности ГТАКС. У крыс обоего пола совместное действие пренатальных факторов снизило эффективность пространственной долговременной памяти по сравнению с эффективностью пространственной памяти в первый день тестирования. Пренатальный буспирон вызвал снижение массы тела у крыс обоего пола. Обнаруженный половой диморфизм в действии пренатальных факторов на когнитивную сферу и реактивность ГТАКС у взрослых крыс может указывать на различные изменения нейрональной пластичности в областях гиппокампа, участвующих в пространственном обучении и памяти, в зависимости от половой принадлежности.

Ключевые слова: пренатальный буспирон или/и гипоксия, долговременное влияние, пространственное обучение и память, кортикостерон, половой диморфизм

Prenatal influence of buspirone in the hypoxia-induced stress model on spatial learning, memory and physiological response in adult male and female rats

I. P. Butkevich ^{✉1}, V. A. Mikhailenko ¹, E. A. Vershinina ¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Irina P. Butkevich, SPIN: [9248-2288](#), Scopus AuthorID: [7004037979](#), ORCID: [0000-0002-1201-9185](#), e-mail: irinabutkevich@yandex.ru

Viktor A. Mikhailenko, SPIN: [9111-0369](#), Scopus AuthorID: [7006438341](#), ORCID: [0000-0003-4221-7702](#), e-mail: viktormikhailenko@yandex.ru

Elena A. Vershinina, SPIN: [1082-8759](#), Scopus AuthorID: [6701609543](#), ORCID: [0000-0002-8873-4409](#), e-mail: ver_elen@mail.ru

For citation: Butkevich, I. P., Mikhailenko, V. A., Vershinina, E. A. (2024) Prenatal influence of buspirone in the hypoxia-induced stress model on spatial learning, memory and physiological response in adult male and female rats. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 60–71. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-60-71> EDN [HBOOAF](#)

Received 13 March 2024; reviewed 7 April 2024; accepted 11 April 2024.

Funding: The study was supported by the State funding allocated to the Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences (№1023032400236-8-3.1.4).

Copyright: © I. P. Butkevich, V. A. Mikhailenko, E. A. Vershinina (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](#).

Abstract. This paper discusses the influence of the anxiolytic and antidepressant 5-HT_{1A} receptor agonist, buspirone, used to treat anxious-depressive state in pregnant women on the adaptive behavior of the offspring. The study of the intrauterine influence of the buspirone and hypoxia combination on cognition and stressful response notably in adult individuals of different sex has a high prognostic value for neonatologists. We investigated, for the first time, the effect of chronic buspirone administration, moderate acute normobaric hypoxia and their interaction in the prenatal period on spatial learning, memory and reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system (HPA) and body weight in adult male and female rats. Each prenatal factor alone did not impair spatial learning or memory in rats of either sex, while the combination of buspirone and hypoxia weakened the improved effect of hypoxia on spatial learning in male rats and the efficiency of spatial long-term memory in female rats, which was combined in the latter with a decrease in the stress response of corticosterone in the blood plasma. In rats of both sexes, the combined effect of prenatal factors reduced the effectiveness of spatial long-term memory compared to the effectiveness of spatial memory on the first day of testing. Prenatal buspirone caused a decrease in body weight in rats of both sexes. The observed sexual dimorphism in the influence of prenatal factors on cognition and the HPA axis reactivity in adult rats may indicate various changes of neuronal plasticity in hippocampal regions involved in spatial learning and memory, depending on sex.

Keywords: prenatal buspirone and/or hypoxia, long-term influence, spatial learning and memory, corticosterone, sexual dimorphism

Введение

Исследование влияний агониста серотонинергического рецептора 1A (5-HT_{1A}) буспилона и умеренной гипоксии во время беременности на адаптивное поведение потомства вызывает повышенный интерес у неонатологов и имеет важное медико-социальное значение (De Kloet et al. 2018; Nalivaeva et al. 2018; Post et al. 2023). Буспирон обычно применяют для лечения тревожности у женщин репродуктивного возраста. Буспирон является полным агонистом серотонинергических пресинаптических ауторецепторов и частичным агонистом

постсинаптических гетерорецепторов типа 1A. Рецептор 5-HT_{1A} (5-HT_{1AR}) выявляется в гиппокампе крысы на 12-й эмбриональный день (ЭД12), затем данный рецептор экспрессируется в миндалевидном теле, префронтальной коре (Patel, Zhou 2005), где он опосредует влияние серотонина (5-HT) на психоэмоциональное поведение, когнитивную систему и другие нейробиологические функции организма. Буспирон проникает через плацентарный и гематоэнцефалический барьеры и может изменить уровень 5-HT в мозге плода. В пренатальный период 5-HT отвечает за развитие 5-HT-ергической системы и регулирует процессы нейрогенеза

и синаптогенеза (Buller et al. 2012). Дисбаланс в развитии 5-НТ-ергической системы вызывает морфофункциональные нарушения в структурах мозга, что в дальнейшем изменяет функционирование гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГТАКС) и когнитивной сферы (Brummelte et al. 2017). Серотонинергическая система и ГТАКС нейроанатомически и функционально тесно взаимосвязаны и участвуют в развитии и регуляции гиппокампа — главной структуры мозга, вовлеченной в реализацию процессов обучения, кратковременной и долговременной памяти и пространственной навигации (Lisman et al. 2017). Нейроны гиппокампа обильно снабжены 5-НТ1А рецепторами и глюкокортикоидными рецепторами (Vombardi et al. 2021; De Kloet et al. 2018), что обуславливает высокую чувствительность гиппокампа к стрессорным факторам (Kim, Kim 2023). Данные, полученные с использованием позитронно-эмиссионной томографии на человеке, и генетические исследования свидетельствуют об участии 5-НТ и 5-НТ1А в гиппокампе в пространственном обучении и памяти (Gajardo et al. 2023; Glikmann-Johnston et al. 2015). Принимая во внимание ответственную роль 5-НТ и 5-НТ1А в развитии головного мозга, становится понятным острый интерес клиницистов к пренатальному влиянию бупирона на развитие важнейших интегративных функций организма. Имеющаяся информация по этому вопросу неоднозначна, представлена на особях мужского пола, долгосрочные последствия пренатально введенного бупирона не исследованы, как и сам механизм действия бупирона (Freeman et al. 2022; Thorsness et al. 2018).

Пренатальная гипоксия является распространенным стрессорным фактором в неонатальной клинике, механизм пренатальной гипоксии интенсивно исследуется на грызунах (Andrade 2023; Post et al. 2023). В адаптации организма к гипоксическому стрессу ведущая роль принадлежит стрессорной ГТАКС и 5-НТ-ергической системе (Carneiro et al. 2022; Rybnikova, Nalivaeva 2021). Изучение влияний умеренной пренатальной гипоксии, которая встречается в неонатальной клинике гораздо чаще, чем тяжелая форма гипоксии, но менее исследована, важно для понимания механизмов устойчивости и уязвимости адаптивных систем к стрессорным воздействиям (Hanswijk et al. 2020).

Принимая во внимание вышеизложенное, а также необходимость изучения влияния сочетания различных пренатальных воздействий как прогностического фактора для возможной

коррекции их последствий, цель работы состояла в исследовании пространственного обучения, памяти, реактивности ГТАКС и массы тела у взрослых самцов и самок крыс, рожденных матерями, подвергнутыми во время беременности хроническому введению бупирона, острой умеренной нормобарической гипоксии и их совместному действию.

Материалы и методы

Взрослые самки и самцы крыс линии Вистар были получены из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем». Экспериментальный протокол утвержден Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ 02/09 от 9 февраля 2022 г.); работа проводилась в соответствии с международными принципами биомедицинских исследований с использованием животных (CIOMS, Женева, 1985). Беременных самок ($n = 20$) помещали по 3–4 особи в стандартные клетки. С 9-го по 20-й день беременности экспериментальных самок ($n = 10$) подвергали ежедневно однократной инъекции агониста 5-НТ1А бупирона (3,5 мг/кг, 1 мл внутривенно), контрольных беременных самок ($n = 10$) — инъекции физиологического раствора (ФР) в том же объеме. На 14-й день беременности (ЭД14) половину от числа экспериментальных и числа контрольных самок помещали в барокамеру для воздействия острой нормобарической гипоксией (содержание кислорода в газовой смеси — 7,6–7,8%, углекислого газа — 0,15–0,21%, азота — 91,8% при температуре 21–23°C) в течение 60 минут. Остальных крыс помещали в барокамеру, но не подвергали гипоксии. Данная модель гипоксии используется в лаборатории онтогенеза нервной системы (Khozhai, Otellin 2022).

В возрасте 30 сут (P30) крысят разлучали с матерью, разнополых особей рассаживали по четыре в разные стандартные клетки. Для исследования были сформированы следующие группы крыс: бупирон и гипоксия (самцы $n = 9$, самки $n = 8$), ФР и гипоксия (самцы $n = 9$, самки $n = 10$), бупирон без гипоксии (самцы $n = 9$, самки $n = 8$), ФР без гипоксии (самцы $n = 7$, самки $n = 9$), от каждой матери в эксперимент брали не более двух разнополых крысят.

У 90–100-дневных животных исследовали способность к пространственному обучению в водном лабиринте Морриса в течение пяти дней. Подробное описание данной процедуры было представлено нами ранее (Mikhailenko et al.

2023). На рисунке 1 представлена схема экспериментов. Бассейн, в котором исследовали процессы обучения и памяти, визуально был разделен на четыре квадранта, в одном из которых, целевом, находилась платформа. Ежедневно крысе предоставляли две одинаковые пробы, каждая из четырех попыток, с 4-минутным отдыхом между ними в сухой клетке. В каждой попытке регистрировали время (не более 60 с), за которое крыса находила платформу (латентный период, ЛП), нахождение на платформе составляло 20 с, между попытками крысе давали 15 с отдыха. На пятый день обучения после первой пробы платформу убрали из бассейна и регистрировали эффективность памяти в первый день после удаления платформы, а через 96 ч — эффективность долговременной памяти. С помощью вебкамеры и компьютерной программы регистрировали траекторию движения крысы, время достижения платформы (с) и время пребывания в целевом квадранте (с) за 60 с, где во время обучения находилась платформа. После опытов крыс взвешивали.

Через 30 мин после тестирования долговременной памяти у крыс путем декапитации собирали образцы крови для определения содержания кортикостерона в плазме крови методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов («Хема-Медика Со» Cat №: K210R; Россия) с помощью спектрофотометрической пластины (Spectrostar NANO, BMG Labtech, Германия) (Mikhailenko et al. 2023).

После проверки гипотезы об отклонении распределений данных от нормального с использованием критерия Колмогорова — Смирнова, проводили статистический анализ результатов с использованием дисперсионного анализа ANOVA в программном комплексе SPSS Inc 26 с последующими множественными сравнениями с поправкой Бонферрони. Данные представлены средними значениями плюс-минус стандартные ошибки. Принятый уровень значимости составлял 5%.

Результаты исследования

Проведенный статистический анализ динамики латентного периода (ЛП) достижения платформы показал, что среднее значение ЛП (по четырем попыткам) в первой пробе в первые сутки было значимо выше по сравнению с аналогичным средним значением ЛП во второй пробе в первые сутки у крыс обоего пола ($p < 0,001$) и выше ЛП обеих проб в последующие сутки тренировки ($p < 0,01$). Дисперсионный анализ с факторами пол (самцы, самки), условие (без гипоксии/гипоксия), воздействие (ФР/буспирон) показал значимое взаимодействие факторов условия и воздействия.

$F(1,62) = 6,896, p = 0,011, \eta^2 = 0,100$ для усредненных по четырем попыткам данных в первой пробе в первые сутки. Значимое влияние фактора пола выявлено не было, как и не было обнаружено значимое взаимодействие факторов пол и условие, а также факторов пол и воздействие. Обнаружено, что гипоксия уменьшила

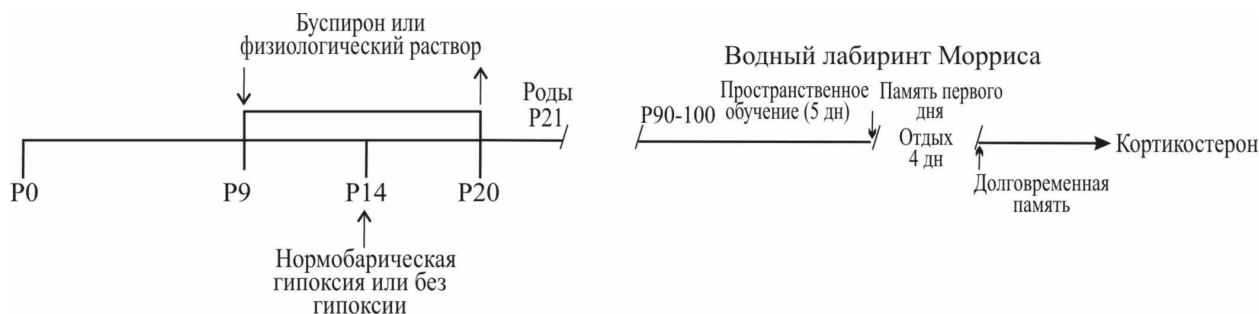


Рис. 1. Схема экспериментов на беременных крысах и их потомстве обоего пола

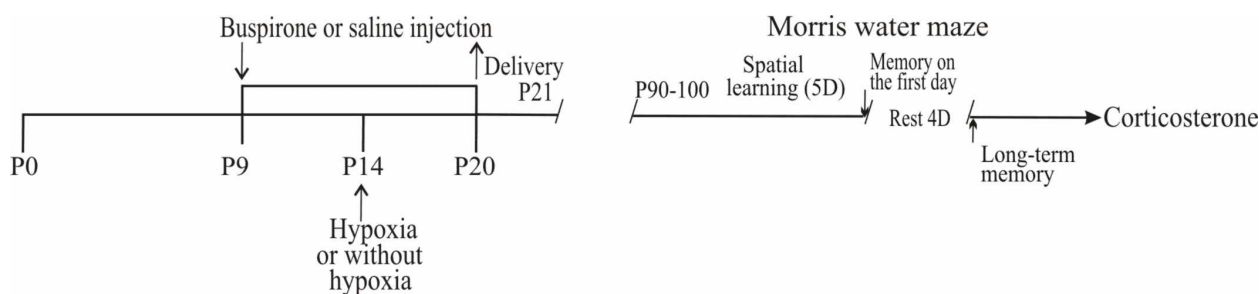


Fig. 1. Scheme of the experiments on pregnant rats and their offspring of both sexes

ЛП в первой пробе в первый день тестирования у самцов, пренатально подвергнутых введению ФР, по сравнению с ЛП у самцов без гипоксического воздействия (рис. 2А, В, С). Буспирон нивелировал улучшение обучения у гипоксических крыс: ЛП у самцов и самок с воздействием

буспилона не различался с ЛП у крыс, подвергнутых и не подвергнутых гипоксии (рис. 2А, В, С, D, E, F). Данный показатель обучения у самцов крыс с сочетанием гипоксии и буспилона был больше по сравнению с сочетанием гипоксии и ФР ($p = 0,049$) (рис. 2А).

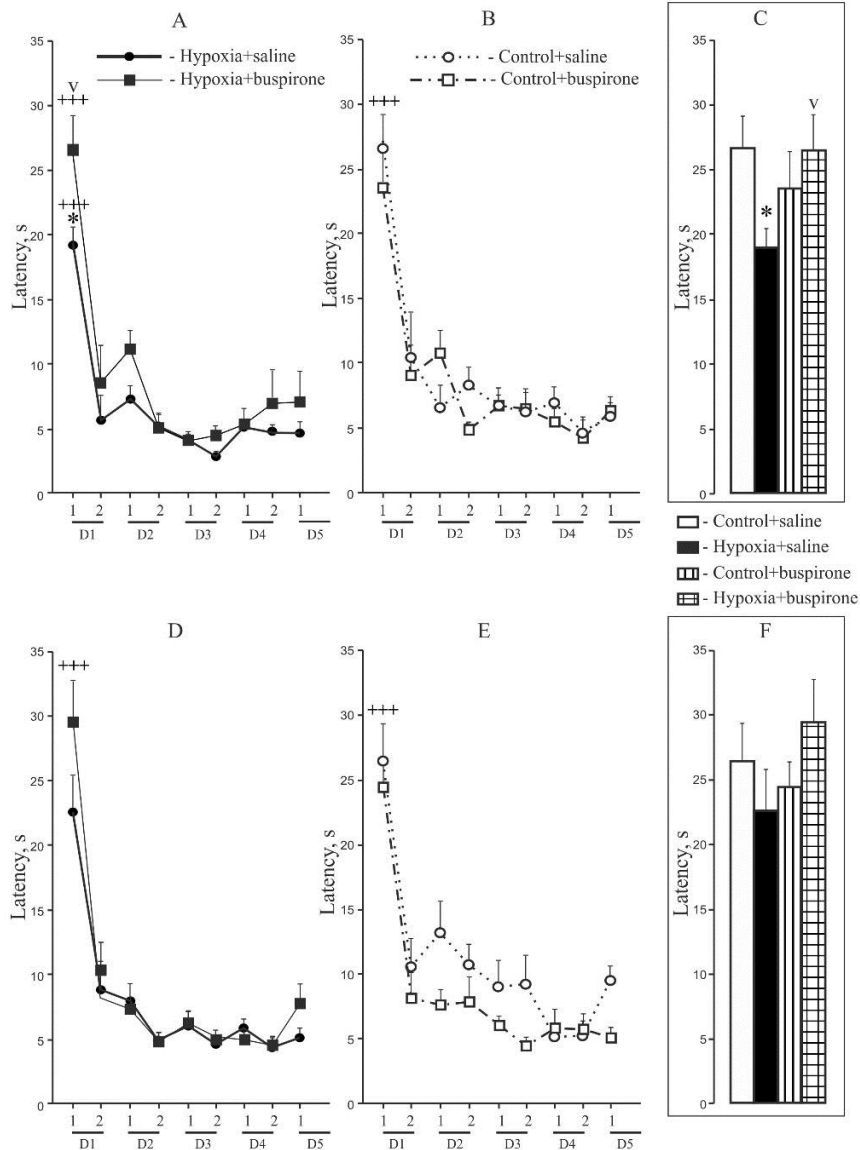


Рис. 2. Динамика времени достижения платформы (ЛП) в водном лабиринте Морриса в течение пяти дней у взрослых самцов (А, В, С) и самок (D, E, F) крыс, подвергнутых воздействию гипоксии (А, D) и без гипоксии (контроль) (В, Е) в пренатальный период развития. 1 и 2 — первая и вторая пробы, D1–D5 — пять тренировочных дней. Панели (С) и (F) показывают гистограммы ЛП в первую пробу в первый день у самцов и самок крыс соответственно. * — $p < 0,05$ гипоксия + ФР vs контроль + ФР (А, В); +++ — $p < 0,001$ первая проба первого дня vs вторая проба первого и всех последующих проб всех дней, во всех группах крыс; v — $p < 0,05$ гипоксия + буспирон vs гипоксия + ФР у самцов крыс. Данные представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка

Fig. 2. Dynamics of the time of reaching the platform (LP) in the Morris water maze over five days in adult male (A, B, C) and female (D, E, F) rats exposed to hypoxia (A, D) and without hypoxia (B, E) (control) in the prenatal period. 1 and 2 — first and second trials; D1–D5 — five training days. Panels (C) and (F) show LP histograms on the first trial on day 1 in male and female rats respectively. * — $p < 0.05$ hypoxia + saline vs control + saline (A, B); +++ — $p < 0.001$ the first trial on the first day vs the second trial of the first and all subsequent trials of all the days, in all groups of rats; v — $p < 0.05$ hypoxia + buspirone vs hypoxia + saline in male rats. Data presented as mean \pm SEM

При проведении двух трехфакторных анализов отдельно для показателя памяти в первый день тестирования и долговременной памяти влияние пола на память выявлено не было. Поэтому при исследовании памяти был применен смешанный дисперсионный анализ (факторы: память, условие и воздействие). Тесты внутри субъектов показали значимое влияние памяти 1-го дня тестирования и долговременной памяти у самцов $F(1, 27) = 25,1$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,481$ и взаимодействия факторов память, условие и воздействие $F(1, 27) = 5,2$, $p = 0,031$, $\eta^2 = 0,162$, а у самок — фактора память $F(1, 32) = 22,042$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,408$ и взаимодействия факторов память и воздействия $F(1, 32) = 4,739$, $p = 0,037$, $\eta^2 = 0,129$; тесты между субъектами показали значимое влияние факторов взаимодействия условия и воздействия $F(1, 32) = 7,445$, $p = 0,01$, $\eta^2 = 0,189$ у самок.

При тестировании эффективности памяти в первый день после удаления платформы обнаружено, что пренатальная гипоксия в сочетании с ФР увеличила время пребывания в целевом квадранте у самок по сравнению с этим показателем у самок, не подвергнутых воздействию гипоксии ($p = 0,036$). У самок, не подвергнутых гипоксии, пренатальный буспирон повысил эффективность памяти по сравнению с эффективностью памяти у самок с введением ФР ($p = 0,037$) (рис. 3А). У самцов в эффективности памяти в первый день тестирования не было обнаружено различий между группами.

При тестировании долговременной памяти обнаружено, что гипоксия увеличила время пребывания в целевом квадранте у самок крыс по сравнению с этим показателем у самок, не подвергнутых гипоксии ($p = 0,049$) (рис. 3В), воздействие гипоксии в сочетании с буспиронем

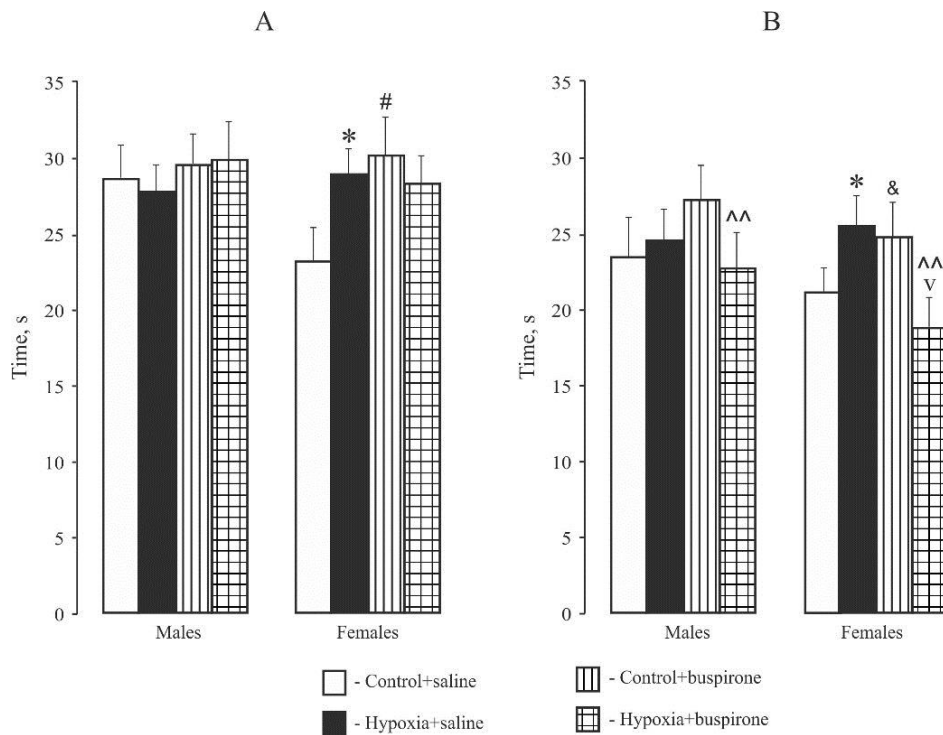


Рис. 3. Эффективность пространственной памяти в первый день тестирования (А) и пространственной долговременной памяти (В) в водном лабиринте Морриса у самцов и самок взрослых крыс, подвергнутых воздействию гипоксии или/и буспилона в пренатальный период развития. Ордината: время пребывания в целевом квадранте (с). Уровень значимости: * — $p < 0,05$ гипоксия + ФР vs контроль + ФР; # — $p < 0,05$ контроль + буспирон vs контроль + ФР; v — $p < 0,05$ гипоксия + буспирон vs гипоксия + ФР; ^^ — $p < 0,01$ гипоксия + буспирон (долговременная память) vs гипоксия + буспирон (память первого дня); & — $p < 0,05$ контроль + буспирон (долговременная память) vs контроль + буспирон (память первого дня).

Данные представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка

Fig. 3. Efficiency of spatial memory on the first day of testing (A) and spatial long-term memory (B) in the Morris water maze in male and female adult rats exposed to hypoxia or/and buspirone in the prenatal period. Ordinate: time spent in the target quadrant (s). * — $p < 0.05$ hypoxia + saline vs control + saline; # — $p < 0.05$ control + buspirone vs control + saline; v — $p < 0.05$ hypoxia + buspirone vs hypoxia + saline; ^^ — $p < 0.01$ hypoxia + buspirone (long-term memory) vs hypoxia + buspirone (memory on the first day); & — $p < 0.05$ control + buspirone (long-term memory) vs control + buspirone (memory on the first day).

Data presented as mean \pm SEM

уменьшило данный показатель по сравнению с таковым у гипоксических самок с ФР ($p = 0,028$) (рис. 3В). При исследовании времени пребывания в целевом квадранте обнаружены различия между памятью первого дня и долговременной памятью у гипоксических крыс с буспином (самки и самцы $p = 0,01$), у самок крыс без воздействия гипоксии с введением буспилона ($p = 0,025$), во всех случаях с меньшим показателем в долговременной памяти (рис. 3А, В). Не было выявлено различий в данном показателе между памятью в первый день тестирования и долговременной памятью у гипоксических самцов и самок с ФР, у крыс, не подвергнутых гипоксии с введением ФР, и у самцов с введением буспилона.

Таким образом, гипоксия с введением ФР улучшила эффективность обоих типов памяти у самок, а буспирон улучшил показатель памяти в первый день у самок, не подвергнутых гипоксии; сочетание буспилона и гипоксии ухудшило эффективность долговременной памяти по сравнению с сочетанием ФР и гипоксии. У самцов

значимых различий во времени пребывания в целевом квадранте между группами не было обнаружено при тестировании обоих типов памяти.

При исследовании содержания кортикостерона в плазме крови проведение трехфакторного дисперсионного анализа ANOVA (факторы: пол, условие, воздействие) позволило обнаружить тенденцию в главных эффектах для пола $F(1,61) = 3,073$, $p = 0,085$, $\eta^2 = 0,048$ и во взаимодействии между полом и воздействием $F(1,61) = 2,768$, $p = 0,085$, $\eta^2 = 0,043$. Более высокий показатель гормона обнаружен у гипоксических самок с воздействием ФР, чем буспилона ($p = 0,011$) (рис. 4А, В).

При анализе данных по массе тела трехфакторный дисперсионный анализ ANOVA показал главные эффекты для пола $F(1,61) = 594,2$, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,907$, воздействия $F(1,61) = 8,9$, $p = 0,004$, $\eta^2 = 0,128$ и тенденцию во взаимодействии условия и воздействия $F(1,61) = 3,5$, $p = 0,066$, $\eta^2 = 0,054$. Апостериорный анализ показал, что у крыс без воздействия гипоксии более низкая

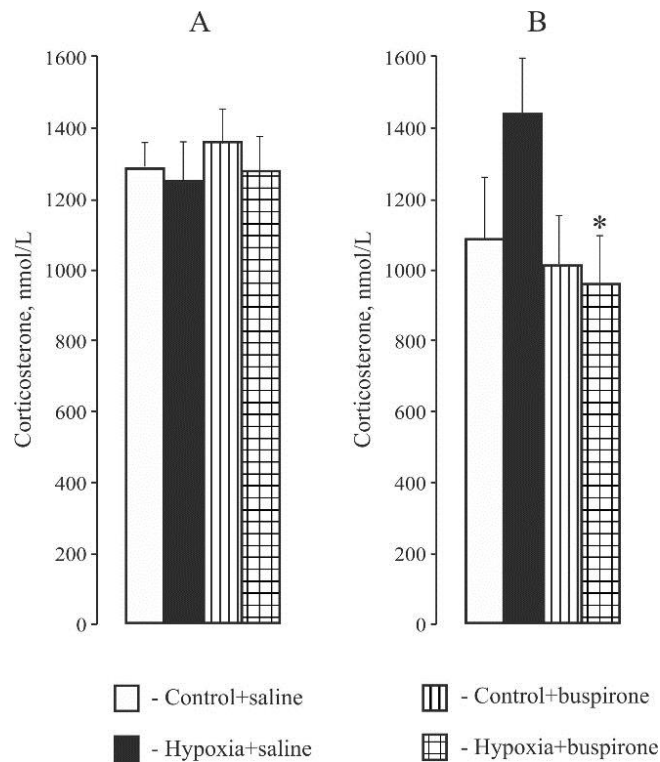


Рис. 4. Содержание кортикостерона в плазме крови в ответ на тестирование долговременной памяти в водном лабиринте Морриса у взрослых самцов (А) и самок (В) крыс, подвергнутых воздействию гипоксии или/и буспилона в пренатальный период развития. Ордината: содержание кортикостерона в плазме крови (нмоль/л). * — $p < 0,05$ гипоксия + буспирон vs гипоксия + ФР. Данные представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка

Fig. 4. Content of corticosterone in blood plasma in response to testing long-term memory in the Morris water maze in adult male (A) and female (B) rats exposed to hypoxia or/and buspirone in the prenatal period. Ordinate: corticosterone content in blood plasma (nmol/L). * — $p < 0,05$ hypoxia + buspirone vs hypoxia + saline. Data presented as mean \pm SEM

масса тела была обнаружена с введением буспилона по сравнению с введением ФР у крыс обоего пола ($p = 0,015$ в обоих случаях) (рис. 5А, В). Масса тела у самцов была больше по сравнению с массой тела у самок ($p < 0,001$) во всех группах (рис. 5А, В).

Обсуждение

Полученные новые результаты свидетельствуют о том, что пренатальные стрессорные факторы, хроническое введение буспилона или острая умеренная нормобарическая гипоксия не ухудшили способность к пространственному обучению и память в водном лабиринте Морриса у взрослых крыс. Пренатальные факторы могут взаимодействовать, изменяя влияние каждого из них, и оказывать долговременные последствия на когнитивный процесс в зависимости от пола. Взаимодействие буспилона и гипоксии вызывало у самок снижение эффективности долговременной памяти по сравнению с влиянием гипоксии, что сочеталось у них со снижением реактивности ГГКС.

Обнаруженное улучшение пространственного обучения у гипоксических самцов по сравнению

с контрольными самцами может указывать на отсутствие неблагоприятного влияния умеренной по интенсивности гипоксии на фоне ежедневного введения ФР и хэндлинга на данный тип поведения. Умеренная гипоксия могла способствовать усилению процесса нейрогенеза, активно развивающегося в гиппокампе и других структурах мозга у плода крысы (Bond et al. 2022), что и проявилось у взрослых самцов в усилении способности к пространственному обучению. Отсутствие различий во времени достижения платформы у контрольных крыс обоего пола, подвергнутых хроническому влиянию ФР или буспилона, дает возможность говорить об отсутствии вредного влияния буспилона на способность к пространственному обучению.

В литературе сообщалось, что даже тяжелая пренатальная гипобарическая гипоксия на P14–16 не вызывала изменений как в способности к пространственному обучению, так и числе нейронов и астроцитов в СА1 гиппокампа у 90-дневных крыс (Vetrovoy et al. 2021). Более раннее исследование свидетельствует, что пренатальная длительная острая нормобарическая гипоксии (кислород 7%, 3 ч на P14) привела

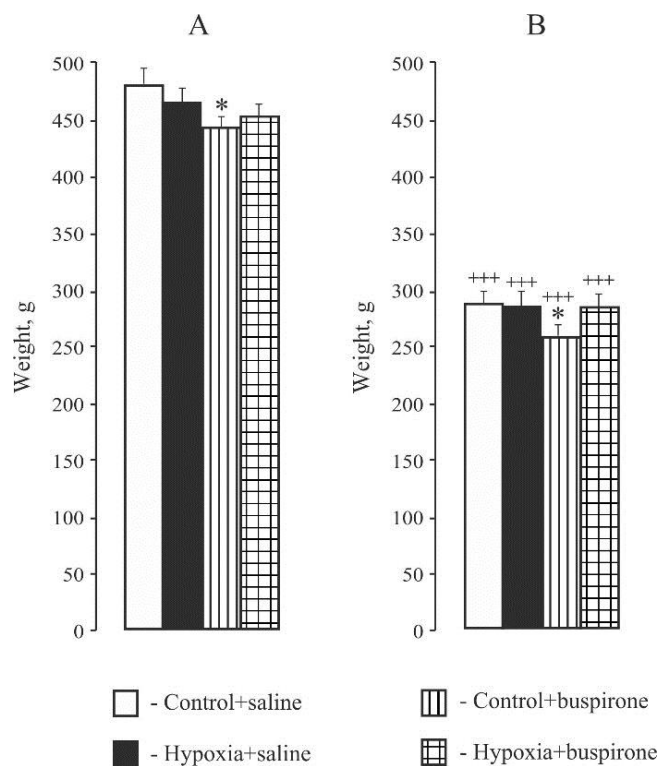


Рис. 5. Масса тела самцов (А) и самок (В) крыс, подвергнутых разным пренатальным воздействиям. Ордината: * — $p < 0,05$ контроль + буспирон vs контроль + ФР; +++ — $p < 0,001$ самцы vs самки во всех группах. Данные представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка

Fig. 5. Body weight of male (A) and female (B) rats exposed to various prenatal effects. Ordinate: * — $p < 0.05$ control + buspirone vs control + saline; +++ — $p < 0.001$ males vs females in all groups. Data presented as mean \pm SEM

к морфологическим и функциональным изменениям в корковых нейронах и в долговременной потенции, а также в плотности синапсов в области CA1 гиппокампа у молодых крыс (Zhuravin et al. 2019). Немногочисленные данные о влиянии нормобарической гипоксии в пренатальный период на когнитивную сферу существенно различаются, что вызвано разными условиями эксперимента (Dubrovskaya, Zhuravin 2010; Mabry et al. 2023; Wang et al. 2021; Zhuravin et al. 2019). Интересно, что новые данные указывают на отсутствие различий в физиологическом эффекте между гипобарической гипоксией и нормобарической гипоксией (Post et al. 2023).

Отсутствие улучшения способности к пространственному обучению у гипоксических самцов крыс на фоне пренатального введения бупирона, вероятно, связано с изменением, вызванным воздействием бупирона на 5-HT_{1A}R (Albert, Vahid-Ansari 2019), который опосредует влияние 5-HT на когнитивную функцию. Хроническая активация этого рецептора сопровождается активацией ГАКС и увеличением концентрации глюкокортикоидных гормонов в крови (Hanswijk et al. 2020). Именно в последнюю треть беременности у крыс протекает интенсивное развитие ГАКС и 5-HT-ергической системы (Andrews, Matthews 2004), и влияние в это время бупирона может изменить нейрогенез и синаптогенез в гиппокампе.

Повышение эффективности пространственной памяти вне зависимости от сроков тестирования памяти у гипоксических самок крыс могло быть вызвано влиянием острой умеренной гипоксии на усиление процесса нейрогенеза в гиппокампе, который протекает и на ранних этапах развития, способствуя усилению нейрональной пластичности, определяющей эффективность памяти (Kempermann 2022). Обнаруженное снижение эффективности долговременной памяти у самок с взаимодействием бупирона и гипоксии по сравнению с взаимодействием ФР и гипоксии дает возможность сделать предположение о доминирующем влиянии бупирона, который, вызывая через 5-HT_{1A}R изменения в 5-HT-ергической системе, модифицирует активность и других нейромедиаторных систем, глутаматергической и дофаминергической, играющих центральную роль в регуляции долговременной пространственной памяти (Hagena, Manahan-Vaughan 2022; Haubrich et al. 2023). Кроме того, бупирон, который наряду с анксиолитическим эффектом обладает и антидепрессивным действием (Yamada et al. 2023), может оказаться под влиянием гетеро-

димерного комплекса 5-HT_{1A} и 5-HT_{7A} рецепторов, влияющего на ауторегуляцию функциональной активности 5-HT-ергической системы мозга (Solís-Guillén et al. 2021).

Интересный факт мы обнаружили при сравнении сохранности пространственной памяти в зависимости от времени ее тестирования: эффективность долговременной памяти была ниже эффективности памяти в первый день тестирования как у самцов, так и у самок крыс именно с взаимодействием бупирона и гипоксии, но не с взаимодействием ФР и гипоксии. Различное проявление последствий взаимодействия гипоксии и бупирона в двух типах памяти может указывать на различные изменения синаптических механизмов, лежащих в основе памяти первого дня и долговременной памяти. Новые данные литературы указывают на зависимость функции 5-HT_{1A}R, связанного с памятью, от холестерина, важного компонента мембран эукариотов, процесс его биосинтеза тесно связан с доступностью кислорода, и этот процесс нарушается в условиях гипоксии (Dutta et al. 2022).

Исследование половых различий является в настоящее время одним из наиболее перспективных и обсуждаемых вопросов в нейронауке (Lafta et al. 2024; Mabry et al. 2023). Выявленные в нашей работе половые различия зависят от эстрогенов, которые, как известно из литературы, модулируют опосредованные гиппокампом формы пространственной памяти (Bowman et al. 2022). Сообщалось, что половое высвобождение эстрогенов в конце пренатального периода с преобладанием женского полового гормона у самцов приводит к дифференцированной сенсibilизации иммунной системы и микроглии у самцов и самок в ответ на стресс. Полагают, что микроглия регулирует половые различия в развитии мозга, поведении и памяти (Dundee et al. 2023; Gregus et al. 2021). Обнаруженное нами у взрослых самок, подвергнутых в утробе матери взаимодействию бупирона и гипоксии, сочетание более низкой эффективности долговременной памяти с более низкой реактивностью ГАКС по сравнению с воздействием гипоксии свидетельствует о том, что пренатальное воздействие данных стрессорных факторов оказывает долговременное комплексное влияние на нейрокогнитивное и нейроэндокринное развитие у особей женского пола, что заслуживает пристального внимания. Снижение массы тела у взрослых крыс обоего пола, рожденных самками, подвергнутыми хроническому введению бупирона, по сравнению с введением физиологического раствора,

могло быть вызвано побочным влиянием бупирона, связанным со снижением аппетита и вызовом анорексии, что показано на взрослых крысах без пренатальных воздействий (Lim et al. 2008). Мы предполагаем, что пренатальный бупирон мог изменить микробиоту матери и плода, подобные изменения показаны с введением ингибиторов обратного захвата серотонина (Desorcy-Scherer et al. 2024), и повлиять в дальнейшем на массу тела потомства.

Таким образом, результаты представленной работы свидетельствуют о том, что пренатальные стрессорные факторы, хроническое введение бупирона или острой умеренной нормобарической гипоксии не ухудшают способность к пространственному обучению и память. Пренатальные факторы могут взаимодействовать, изменяя влияние каждого из них, и оказывать долговременные последствия на когнитивный процесс в зависимости от пола. Полученные на самках крыс данные позволяют предполагать, что взаимодействие бупирона и гипоксии во время беременности может комплексно влиять на долговременное развитие когнитивной и нейроэндокринной систем у женского потомства. Обнаруженный половой диморфизм в долговременном влиянии данных пренатальных стрессорных факторов на когнитивную сферу и реактивность ГПАКС может указывать на различные изменения в нейрональной пластичности в областях гиппокампа, участвующих в пространственном обучении и памяти, в зависимости от половой принадлежности. Полученные новые данные будут способствовать исследованию механизмов резистентности и уязвимости интегративных функций ЦНС к стрессорным воздействиям у разнополых особей и важны для врачей неонатологов в прогностическом аспекте.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Все процедуры работы с животными проводили в соответствии с принципами Базельской декларации. Экспериментальный протокол утвержден Комиссией по гуманному обращению

с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ 02/09 от 9 февраля 2022 г.).

Ethics Approval

All the animal procedures were carried out in accordance with the principles of the Basel Declaration. The experimental protocol was approved by the Commission on Humane Treatment of Animals of the Pavlov Institute of Physiology, RAS (No. 02/09 dated February 09, 2022).

Вклад авторов

а. Буткевич Ирина Павловна — идея и планирование экспериментов, сбор данных, обработка данных, обсуждение, написание и редактирование рукописи;

б. Михайленко Виктор Анатольевич — идея и планирование экспериментов, сбор данных, обработка данных, обсуждение, написание и редактирование рукописи;

в. Вершинина Елена Андреевна — обработка данных, обсуждение и редактирование рукописи.

Author Contributions

а. Irina P. Butkevich — experiment design and planning, data collection, data processing, discussion, writing and editing the manuscript;

б. Viktor A. Mikhailenko — experiment design and planning, data collection, data processing, discussion, writing and editing the manuscript;

с. Elena A. Vershinina — data processing, discussing and editing the manuscript.

Благодарности

Выражаем благодарность старшим лаборантам-ассистентам лаборатории онтогенеза нервной системы Е. Н. Лавровой и Н. А. Улановой за помощь в проведении экспериментов, а также д. б. н. Е. И. Тюльковой (лаб. регуляции функций нейронов мозга, зав. профессор РАН, д. б. н. Е. А. Рыбникова) за проведение количественного анализа кортикостерона.

Acknowledgements

We are grateful to E. N. Lavrova and N. A. Ulanova, senior laboratory assistants at the Laboratory of Nervous System Ontogeny, for their help in conducting the experiments and to E. I. Tyulkova, Doctor of Sciences (Biology) at the Laboratory of Brain Neurons Regulation headed by the professor of the RAS, Dr. Sci. E. A. Rybnikova, for conducting the quantitative analysis of corticosterone.

References

- Albert, P. R., Vahid-Ansari, F. (2019) The 5-HT_{1A} receptor: Signaling to behavior. *Biochimie*, vol. 161, pp. 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.10.015> (In English)
- Andrade, E. (2023) Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. Progress and new treatments according to the pathophysiological basis of the injury. *Medicina (B Aires)*, vol. 83, suppl. 4, pp. 25–30. PMID: 37714119 (In English)
- Andrews, M. H., Matthews, S. G. (2004) Programming of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis: Serotonergic involvement. *Stress*, vol. 7, no. 1, pp. 15–27. <https://doi.org/10.1080/10253890310001650277> (In English)
- Bombardi, C., Grandis, A., Pivac, N. et al. (2021) Serotonin modulation of hippocampal functions: From anatomy to neurotherapeutics. *Progress in Brain Research*, vol. 261, pp. 83–158. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2021.01.031> (In English)
- Bond, A. M., Ming, G.-I., Song, H. (2022) What is the relationship between hippocampal neurogenesis across different stages of the lifespan? *Frontiers in Neuroscience*, vol. 16, article 89171391713. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.891713> (In English)
- Bowman, R., Frankfurt, M., Luine, V. (2022) Sex differences in cognition following variations in endocrine status. *Learning and Memory*, vol. 29, no. 9, pp. 234–245. <https://doi.org/10.1101/lm.053509.121> (In English)
- Brummelte, S., Mc Glanaghy, E., Bonnin, A. et al. (2017) Developmental changes in serotonin signaling: Implications for early brain function, behavior and adaptation. *Neuroscience*, vol. 342, pp. 212–231. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.02.037> (In English)
- Buller, K. M., Wixey, J. A., Reinebrant, H. E. (2012) Disruption of the serotonergic system after neonatal hypoxia-ischemia in a rodent model. *Neurology Research International*, vol. 2012, article 650382. <https://doi.org/10.1155/2012/650382> (In English)
- Carneiro, I. B. C., Toscano, A. E., da Cunha, M. S. B. (2022) Serotonergic mechanisms associated with experimental models of hypoxia: A systematic review. *International Journal of Developing Neuroscience*, vol. 82, no. 8, pp. 668–67980. <https://doi.org/10.1002/jdn.10226> (In English)
- De Kloet, E. R., Meijer, O. C., de Nicola, A. F. et al. (2018) Importance of the brain corticosteroid receptor balance in metaplasticity, cognitive performance and neuro-inflammation. *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 49, pp. 124–145. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.02.003> (In English)
- Desorcy-Scherer, K., Fricke, H. P., Hernandez, L. L. (2024) Selective serotonin reuptake inhibitors during pregnancy and lactation: A scoping review of effects on the maternal and infant gut microbiome. *Developmental Psychobiology*, vol. 66, no. 1, article e22441. <https://doi.org/10.1002/dev.22441> (In English)
- Dubrovskaya, N. M., Zhuravin, I. A. (2010) Ontogenetic characteristics of behavior in rats subjected to hypoxia on day 14 or day 18 of embryogenesis. *Neuroscience and Behavior Physiology*, vol. 40, no. 2, pp. 231–238. <https://doi.org/10.1007/s11055-009-9235-2> (In English)
- Dundee, J. M., Puigdel·l·ivol, M., Butler, R., Brown, G. C. et al. (2023) P2Y₆ Receptor-dependent microglial phagocytosis of synapses during development regulates synapse density and memory. *The Journal of Neuroscience*, vol. 43, no. 48, pp. 8090–8103. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1089-23.2023> (In English)
- Dutta, A., Sarkar, P., Shrivastava, S., Chattopadhyay, A. et al. (2022) Effect of hypoxia on the function of the human serotonin_{1A} receptor. *ACS Chemical Neuroscience*, vol. 13, no. 9, pp. 1456–1466. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.2c00181> (In English)
- Freeman, M. P., Szpunar, M. J., Kobylski, L. A. et al. (2022) Pregnancy outcomes after first-trimester exposure to bupirone: Prospective longitudinal outcomes from the MGH National Pregnancy Registry for Psychiatric Medications. *Archives of Women's Mental Health*, vol. 25, no. 5, pp. 923–928. <https://doi.org/10.1007/s00737-022-01250-8> (In English)
- Gajardo, I., Guerra, S., Campusano, J. M. (2023) Navigating like a fly: *Drosophila melanogaster* as a model to explore the contribution of serotonergic neurotransmission to spatial navigation. *International Journal of Molecular Science*, vol. 24, no. 5, article 4407. <https://doi.org/10.3390/ijms24054407> (In English)
- Glikmann-Johnston, Y., Saling, M. M., Chen, J. et al. (2015) Hippocampal 5-HT_{1A} receptor binding is related to object-location memory in humans. *Brain Structure Function*, vol. 220, no. 1, pp. 559–570. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0675-7> (In English)
- Gregus, A. M., Levine, I. S., Eddinger, K. A. et al. (2021) Sex differences in neuroimmune and glial mechanisms of pain. *Pain*, vol. 162, no. 8, pp. 2186–2200. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002215> (In English)
- Hagena, H., Manahan-Vaughan, D. (2022) Role of mGlu5 in persistent forms of hippocampal synaptic plasticity and the encoding of spatial experience. *Cells*, vol. 11, no. 21, article 3352. <https://doi.org/10.3390/cells11213352> (In English)
- Hanswijk, S. I., Spoelder, M., Shan, L. et al. (2020) Gestational factors throughout fetal neurodevelopment: The serotonin link. *International Journal of Molecular Science*, vol. 21, no. 16, article 5850. <https://doi.org/10.3390/ijms21165850> (In English)
- Haubrich, J., Hagena, H., Tsanov, M., Manahan-Vaughan, D. (2023) Editorial: Dopaminergic control of experience encoding, memory and cognition. *Frontiers in Behavioral Neuroscience. Section Learning and Memory*, vol. 17, article 1230576. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2023.1230576> (In English)

- Kempermann, G. (2022) What is adult hippocampal neurogenesis good for? *Frontiers in Neuroscience*, vol. 16, article 852680. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.852680> (In English)
- Khozhai, L. I., Otellin, V. A. (2022) Distribution of GABAergic neurons and expression levels of GABA transporter 1 in the rat neocortex during the neonatal period after perinatal hypoxic exposure. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 58, no. 6, pp. 1687–1696. <https://doi.org/10.1134/S0022093022060023> (In English)
- Kim, E. J., Kim, J. J. (2023) Neurocognitive effects of stress: A metaparadigm perspective. *Molecular Psychiatry*, vol. 28, no. 7, pp. 2750–2763. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-01986-4> (In English)
- Lafta, M. S., Mwinyi, J., Affatato, O., Rukh, G. et al. (2024) Exploring sex differences: insights into gene expression, neuroanatomy, neurochemistry, cognition, and pathology. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 18, article 2024. <https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1340108> (In English)
- Lim, L. W., Temel, Y., Sesia, T. et al. (2008) Buspirone induced acute and chronic changes of neural activation in the periaqueductal gray of rats. *Neuroscience*, vol. 155, no. 1, pp. 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.05.038> (In English)
- Lisman, J., Buzsáki, G., Eichenbaum, H. et al. (2017) Viewpoints: How the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 20, no. 11, pp. 1434–1447. <https://doi.org/10.1038/nrn.4661> (In English)
- Mabry, S., Wilson, E. N., Bradshaw, J. L. et al. (2023) Sex and age differences in social and cognitive function in offspring exposed to late gestational hypoxia. *Biology of Sex Differences*, vol. 14, no. 1, article 81. <https://doi.org/10.1186/s13293-023-00557-0> (In English)
- Mikhailenko, V. A., Butkeвич, I. P., Vershinina, E. A. (2023) Effects of neonatal hypoxia and antidepressant fluoxetine on cognitive and stress-hormonal functions in adult rats. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 59, no. 3, pp. 687–700. <https://doi.org/10.1134/S0022093023030031> (In English)
- Nalivaeva, N. N., Turner, A. J., Zhuravin, I. A. (2018) Role of prenatal hypoxia in brain development, cognitive functions, and neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 12, article 825. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00825> (In English)
- Patel, T. D., Zhou, F. C. (2005) Ontogeny of 5-HT_{1A} receptor expression in the developing hippocampus. *Brain Research Developmental Brain Research*, vol. 157, no. 1, pp. 42–57. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2005.03.006> (In English)
- Post, T. E., Heijn, L. G., Jordan, J., van Gerven, J. M. A. (2023) Sensitivity of cognitive function tests to acute hypoxia in healthy subjects: A systematic literature review. *Frontiers in Physiology*, vol. 14, article 1244279. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1244279> (In English)
- Rybnikova, E. A., Nalivaeva, N. N. (2021) Glucocorticoid-dependent mechanisms of brain tolerance to hypoxia. *International Journal Molecular Science*, vol. 22, no. 15, article 17982. <https://doi.org/10.3390/ijms22157982> (In English)
- Solís-Guillén, R., Leopoldo, M., Meneses, A. et al. (2021) Activation of 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors enhanced a positively reinforced long-term memory. *Behavioral Brain Research*, vol. 397, article 112932. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112932> (In English)
- Thorsness, K. R., Watson, C., LaRusso, E. M. (2018) Perinatal anxiety: Approach to diagnosis and management in the obstetric setting. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 219, no. 4, pp. 326–345. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.05.017> (In English)
- Vetrovoy, O., Stratilov, V., Nimiritsky, P. et al. (2021) Prenatal hypoxia induces premature aging accompanied by impaired function of the glutamatergic system in rat hippocampus. *Neurochemical Research*, vol. 46, no. 3, pp. 550–563. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03191-z> (In English)
- Wang, B., Zeng, H., Liu, J., Sun, M. (2021) Effects of prenatal hypoxia on nervous system development and related diseases. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 15, article 755554. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.755554> (In English)
- Yamada, R., Wada, A., Stickley, A. et al. (2023) Effect of 5-HT_{1A} receptor partial agonists of the azapirone class as an add-on therapy on psychopathology and cognition in schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, vol. 26, no. 4, pp. 249–258. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyad004> (In English)
- Zhuravin, I. A., Dubrovskaya, N. M., Vasilev, D. S. et al. (2019) Prenatal hypoxia produces memory deficits associated with impairment of long-term synaptic plasticity in young rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 164, article 107066. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.107066> (In English)