ПОСЛЕДСТВИЯ ОДНОКРАТНОГО НЕОНАТАЛЬНОГО ГИПОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА 2-ОЙ ИЛИ 10-ЫЙ ДЕНЬ ЖИЗНИ ДЕТЕНЫШЕЙ БЕЛЫХ КРЫС

Хухарева Д.Д.¹, Суханова Ю.А.¹, Себенцова Е.А.², Левицкая Н.Г.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия; ²Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия
7carcharodon@gmail.com

Перинатальная гипоксия (ПГ) является одним из основных факторов, вызывающих повреждения мозга новорожденных и последующие неврологические нарушения у детей. Современные технологии интенсивной терапии новорожденных, перенесших ПГ, позволили повысить выживаемость, но не привели к снижению неврологических нарушений, что вызвало увеличение заболеваемости среди взрослого населения. Экспериментальные модели ПГ на животных используются для выяснения клеточных и молекулярных механизмов и разработки новых терапевтических стратегий лечения последствий ПГ. Сопоставление уровня зрелости нервной системы человека и животных обосновывает использование неонатальной гипоксии у грызунов в качестве модели ПГ человека.

Целью данного исследования явилось изучение изменений физического и моторного развития, а также поведения у крыс, перенесших острую нормобарическую гипоксию (ОНГ) на 2 постнатальный день (2 пнд) или 10 пнд.

Методы: Работа проводилась на крысятах обоего пола. День рождения крысят принимали за нулевой день. Каждый выводок делили на 2 группы. Было проведено 2 серии экспериментов: (1) – крысят подвергали нормобарической гипоксии (8% O₂, 2 часа, T = 37°) на 2 пнд (ОНГ-2; модель недоношенной беременности человека), (2) – на 10 пнд (ОНГ-10), модель доношенной беременности человека). Регистрировали изменения массы тела и время становления моторных рефлексов. Уровень тревожности крыс оценивали в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), способность к обучению в тесте «Лабиринт Барнса». Эксперименты проводились в соответствии с требованиями Комиссии по биоэтике МГУ.

Результаты. Сразу после ОНГ-2 уровень летальности составил 8.3% (8.6 % самцов, 8.0 % самок), после ОНГ-10 – 34.0% (40.2 % у самцов, 28.6 % у самок). У крысят, перенесших ОНГ как на 2, так и на 10 день, наблюдалось отставание по массе тела от контроля. Неонатальная гипоксия вызывала замедление становления моторных рефлексов. Крысы, перенесшие гипоксию, демонстрировали задержку в выполнении рефлексов отрицательного геотаксиса (ОНГ-2 и ОНГ-10) и переворота на плоскости (ОНГ-2). ОНГ-2 не привела к изменению уровня тревожности в тесте ПКЛ у крыс в возрасте 1-го месяца. ОНГ-10 не вызывала изменения поведения самцов, но приводила к повышению тревожности в ПКЛ у самок крыс. В тесте лабиринт Барнса во всех группах крыс наблюдалось значимое снижение числа ошибок и латентного периода реакции в течение 5-и дней обучения, что свидетельствует об успешной выработке рефлекса. Однако, при проверке обучения на 6-й день с повышенным уровнем стрессорной нагрузки, крысы группы ОНГ-2 совершали

больше ошибок, чем контроль. В группе крыс ОНГ-10 отличий от контроля не наблюдалось.

Следовательно, однократная неонатальная нормобарическая гипоксия у крыс в возрасте 2-х или 10 дней вызывает нарушения физического и моторного развития животных. Долговременные эффекты неонатальной гипоксии на уровень тревожности и способность к обучению зависят от возраста, в котором крысы подвергались гипоксическому воздействию.

Работа поддержана РФФИ (грант № 19-04-00209).

EFFECTS OF ACUTE NEONATAL HYPOXIC EXPOSURE ON THE 2ND OR 10TH DAY OF LIFE OF WHITE RAT PUPS

Khukhareva D.D.¹, Sukhanova Yu.A.¹, Sebentsova E.A.², Levitskaya N.G.¹

¹Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, Moscow, Russia;

²Institute of Molecular Genetics, RAS, Moscow, Russia

7carcharodon@gmail.com

Perinatal hypoxia (PH) is one of the most common causes of perinatal brain injury and subsequent neurological disorders in children. Improved intensive care technology has increased newborn survival without preventing neurological disorders, increasing morbidity throughout the adult population. Animal models have been used to elucidate cellular and molecular mechanisms and to develop new therapeutic strategies for PH treatment. Comparison of the maturity level of the nervous system of humans and animals justifies the use of neonatal hypoxia in rodents as a model of human perinatal hypoxia.

The aim of the work is the study of physical and motor development, as well as behaviour of rats exposed to acute normobaric hypoxia (ANH) at 2 postnatal day (2 pnd) or 10 pnd.

Methods. The work was carried out on newborn rats of both sexes. The day of delivery was counted as postnatal day 0. Each litter was randomly divided into two groups. We have conducted two series of experiments: (1) – the rats pups exposed to hypoxia (8% O₂, 2 hours, T = 37 °C) on pnd 2 (ONH-2; the model of human preterm delivery); (2) – hypoxia on pnd 10 (ONH-10; the model of human term delivery). Changes in body weight and time of motor reflexes maturation were recorded. The rat anxiety level was assessed in the test "Elevated plus maze" (EPM), the ability to spatial learning was assessed in the "Barnes Maze" test. All protocols and procedures were conducted in accordance with the local Committee on Biomedical Research Ethics of Moscow State University.

Results. In the series with ONH-2 the mortality rate immediately after hypoxia was 8.3% (8.6 % males, 8.0 % females), in the ONH-10 series – 34.0% (40.2 % males, 28.6 % females). The weight gain was decreased in rat pups exposed to ONH-2 as well as ONH-10. Neonatal hypoxia led to delayed maturation of the motor reflexes. Hypoxic rats displayed retarded performance in the negative geotaxis (ONH-2 and ONH-10) and the righting reflex (ONH-2) tests. ONH-2 did not influence the anxiety level in the EPM test in rats at the age of 1 month. An assessment of the effect of

ONG-10 on behavior in EPM showed that the hypoxia did not cause changes in male behavior but increased anxiety in female rats.

In Barnes maze test all groups showed marked improvements in escape latency and number of errors over the 5 days of training, indicating successful acquisition of maze task. However, when we added a new stressful stimulus on 6th day, the hypoxic animals made more errors than control, confirming deficits in memory retention. There were no differences from control in the ONH-10 group of rats.

Consequently, acute neonatal normobaric hypoxia in rats aged 2 or 10 days causes impairment of physical and motor development of animals. The long-term effects of neonatal hypoxia on anxiety levels and learning capacity depend on the age at which rats were exposed to hypoxic exposure.

This work was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant № 19-04-00209).