

## ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА АКТИВНОСТЬ РАСТВОРИМЫХ ФОРМ ХОЛИНЕСТЕРАЗ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

© 2020 г. А. Ю. Морозова<sup>1</sup>, А. В. Арутюнян<sup>1,\*</sup>, П. Ю. Морозова<sup>3</sup>,  
Л. С. Козина<sup>4</sup>, И. А. Журавин<sup>2</sup>, Н. Н. Наливаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: alexarutiunjan@gmail.com

Поступила в редакцию 14.04.2020 г.

После доработки 10.07.2020 г.

Принята к публикации 10.07.2020 г.

В работе исследовалась динамика изменения активности растворимых форм холинестераз (АХЭ и БХЭ – КФ 3.1.1.7; КФ 3.1.1.8) в гиппокампе, коре, мозжечке и сыворотке крови крыс на 5-, 10- и 30-й дни постнатального развития в норме и после пренатальной гипоксии. Показано, что активность растворимой АХЭ достигает своего максимального значения на 10-й день жизни и затем остается на данном уровне (мозжечок, кора) либо достоверно снижается к 30-му дню жизни (гиппокамп). Сходные изменения наблюдаются и в динамике активности растворимой БХЭ, значения которой практически на порядок ниже, чем у АХЭ во всех исследованных структурах мозга. Пренатальная гипоксия на 14-й день эмбрионального развития приводила к достоверным изменениям активности растворимых АХЭ и БХЭ во всех изученных структурах головного мозга и сыворотке крови. Так, активность АХЭ и БХЭ в сыворотке крови на 5-й и 10-й дни жизни крыс, перенесших пренатальную гипоксию, была достоверно ниже, а на 30-й день не отличалась от контрольных величин. Таким образом, недостаток кислорода у матери в период беременности оказывает существенное влияние на активность растворимых форм основных ферментов центральной и периферической холинергических систем, что свидетельствует о возможном изменении их становления в раннем онтогенезе. Это может приводить как к нарушению нейрогенеза и формирования двигательной активности и когнитивных функций, так и к общему нарушению гомеостаза в процессе развития животных и человека.

*Ключевые слова:* ранний онтогенез, гипоксия, холинестеразы, АХЭ, БХЭ, холинергическая система, головной мозг, кора, гиппокамп, мозжечок, сыворотка крови

DOI: 10.31857/S0044452920060066

В последние годы наблюдается рост заболеваемости нервной системы детей, большинство которых связано с патологией развития ЦНС во внутриутробном периоде. К числу таких патологий можно отнести задержку внутриутробного развития (ЗВУР), которая возникает в результате плацентарной недостаточности [1, 2]. При действии патологических факторов на организм матери происходит нарушение транспортной, трофической и антиоксидантной функций плаценты, что ведет к развитию у плода пренатальной гипоксии и рождению детей с ЗВУР [1]. Для детей с этим диагнозом характерны подавление двигательной активности, сниженная способность к обучению, невниматель-

ность, повышенная тревожность и нарушение ряда других когнитивных функций. Необходимо также отметить, что дети с ЗВУР страдают неврологическими расстройствами не только в перинатальном периоде, но и в последующие годы жизни [3]. В связи с этим является актуальным изучение патогенеза пренатальной гипоксии, а также поиска диагностических тестов для своевременной оценки нарушений функциональной активности ЦНС новорожденных с ЗВУР. В настоящее время последние пренатальной гипоксии активно исследуются в экспериментах на животных, в частности на крысах. Эти исследования дополняют уже существующие сведения о биохимических механизмах

пренатальной гипоксии и способствуют выявлению показателей, отражающих влияние пренатальной гипоксии на головной мозг. К одним из таких показателей можно отнести активность холинестеразы, характеризующих состояние холинестергической системы, которая является одной из основных нейромедиаторных систем головного мозга и играет ключевую роль в регуляции двигательной активности, процессах обучения и памяти, страдающие у детей с ЗВУР.

Ацетилхолинэстераза (АХЭ) является одним из основных ферментов холинестергической системы и может использоваться в качестве маркера, по изменению активности которого можно судить о ее функциональном состоянии. В организме АХЭ встречается в виде двух форм: мембрансвязанной и растворимой. Последние осуществляют не только гидролиз основного медиатора ацетилхолина (АХ), но также обладают нейротрофическими свойствами, что очень важно в ходе онтогенетического развития нервной системы [4–6]. Так, растворимые формы АХЭ участвуют в процессах клеточной адгезии, нейрогенеза, аксонального роста [7], оказывают влияние на пролиферацию и дифференциацию нервных клеток [8, 9]. Данные процессы обеспечивают нормальное функционирование ЦНС, а изменения в содержании и активности растворимой АХЭ могут сопровождаться и приводить к различным патологиям. Нарушение функций холинестергической системы и изменение свойств ферментов метаболизма АХ имеют место при стрессе, инсульте и ишемии головного мозга [10, 11], а также при заболеваниях нервной системы, таких как болезнь Паркинсона и Альцгеймера [12, 13]. Кроме АХЭ, в организме животных и человека присутствует второй тип холинестеразы – бутирилхолинэстераза (БХЭ), которая локализована, в основном, в белом веществе головного мозга, в глии, а также телах нейронов, в то время как АХЭ обнаруживается в нейронах и нервных окончаниях многих клеточных структур [14, 15]. Показано, что в ходе онтогенеза экспрессия данных ферментов проявляется по-разному. Так, БХЭ выявляется значительно раньше АХЭ, и, возможно, индуцирует экспрессию АХЭ [16]. В то же самое время в зрелом организме БХЭ выполняет защитную функцию, удаляя различные токсины и ксенобиотики [17], однако может выполнять и классическую функцию расщепления АХ при отсутствии АХЭ [18].

Описанные нейротрофические свойства АХЭ и БХЭ имеют важное значение для формирования и развития нейрональных связей в ЦНС, особенно в раннем онтогенезе, что необходимо для становления у потомства таких жизненно важных функций, как обучение и память. Несмотря на накопленные данные об общих свойствах ферментов холинестергической системы в различных отделах мозга, встречаются лишь единичные работы по изучению в них растворимых форм АХЭ и БХЭ, особенно в моз-

жечке, ответственном за двигательные функции новорожденного, которые страдают в первую очередь при ЗВУР. Комплексная оценка изменения активности данных ферментов в структурах головного мозга, отвечающих за формирование моторного поведения, обучение и память, а также в сыворотке крови в раннем онтогенезе практически отсутствуют. В связи с этим вызывает большой интерес экспериментальное изучение динамики активности растворимых форм АХЭ и БХЭ в коре, гиппокампе, мозжечке и сыворотке крови животных в раннем онтогенезе, а также оценка влияния на их активность пренатальной гипоксии.

Целью данной работы являлось исследование активности растворимых форм холинестераз в гиппокампе, коре, мозжечке, а также в сыворотке крови в раннем онтогенезе крыс в норме и после пренатальной гипоксии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали крыс линии Wistar разного возраста из вивария Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (ИЭФБ РАН), как перенесших пренатальную гипоксию, так и не подвергавшихся ей (контрольная группа). Все исследования выполнялись с соблюдением утвержденных международных правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [19] и в соответствии с рекомендациями этического комитета ИЭФБ РАН. В группе животных, перенесших пренатальную гипоксию, беременные самки крыс на 14-й день развития плода (Е14) подвергались действию нормобарической гипоксии в камере, емкостью 100 л, оснащенной системой вентиляции, терморегуляции, и адсорбции выдыхаемого  $\text{CO}_2$ , а также газовым анализатором. В ходе эксперимента содержание  $\text{O}_2$  снижалось с 21 до 7% в течение 10 мин, и удерживалось на этом уровне 3 ч. В контрольную группу вошли животные, рожденные от самок, содержащихся в камере без изменения газовой среды в течение такого же времени, как и беременные самки с будущим потомством подопытной группы.

В экспериментах использовали крыс из потомства гипоксических и контрольных животных в возрасте 5, 10 и 30 дней после рождения. Выбор 14-го дня эмбрионального развития для гипоксического воздействия был обусловлен тем, что пролиферативная активность клеток головного мозга достигает максимума к концу второй недели внутриутробного развития, а затем снижается [20–22]. В этот период происходит генерация клеток новой коры, гиппокампа и мозжечка [21], поэтому гипоксическое воздействие на исследуемые структуры оказывалось в критические сроки формирования этих структур, когда они наиболее уязвимы. Выбор сроков исследования потомства в постнатальном

онтогенезе обусловлен следующими факторами: 5-й день — завершение миграции нейробластов, нейритогенез, 10-й день — начало миелинизации, максимальный кровоток, синаптогенез, 30-й день — завершение интенсивного формирования ЦНС [23]. Число крыс в контрольной группе составляло не менее 6 животных.

На указанных сроках жизни животных декапировали и извлекали мозг на холоде (+4°C). Зону, соответствующую коре, гиппокампу и мозжечку, выделяли согласно атласу [24]. В случае необходимости повторного исследования образцы замораживали и хранили при -80°C. Ткани исследуемого структур мозга гомогенизировали в буфере, содержащем: 0.02 M Tris-HCl, 0.01 M MgCl<sub>2</sub> и 0.05 M NaCl и центрифугировали при 100 000 g в течение 10 мин. Полученный супернатант отделяли от осадка и использовали для определения активности растворимых форм АХЭ и БХЭ. Образцы сыворотки крови получали посредством отстаивания собранной при декапитации крыс крови в течение 30 мин при 37°C и последующем центрифугировании при 2500 об./мин в течение 20 мин. В случае необходимости повторного исследования образцы замораживались и хранились при -80°C.

Определение активности холинэстераз проводилось по модифицированному нами методу Элмана в 96-луночных планшетах [25]. В качестве инкубационной среды использовался раствор, в состав которого входили: 0.025 мл 0.002 M дитионитробензойной кислоты (DTNB), растворенной в 0.2 M Na-фосфатном буфере (pH 7.5), 0.0125 мл водного раствора 0.01 M субстратов реакций — йодистого ацетилтиохолина (АТХ) или бутирилтиохолина (БТХ), 20–50 мкл фракций, содержащих анализируемые ферменты. Реакцию начинали добавлением субстрата. Пробы выдерживали в течение 20–30 мин до развития желтой окраски при комнатной температуре, после чего реакцию останавливали добавлением 3%-го раствора доцилсульфата натрия (SDS). Каждый образец анализировали троекратно. Для того, чтобы учесть уровень содержания эндогенных тиолов в исследуемых образцах, для каждого из них готовили контрольные параллельные пробы, в которые SDS добавляли заранее (до добавления субстрата), и полученные значения вычитали из величин после проведения ферментативной реакции. Определение активности АХЭ проводили в присутствии ингибитора БХЭ этопропазина гидрохлорида (20 мкМ, Sigma), а определение активности БХЭ — в присутствии фенилметилсульфонилфторида (25 мкМ, Sigma), ингибирующего АХЭ. Интенсивность окраски измеряли при длине волны 405 нм. Калибровочную кривую строили с использованием цистеина в качестве стандарта. Результаты представлены в величинах удельной активности фермента и выражены в нмолях субстрата/мг белка в мин.

Количество белка определяли методом Бредфорда [26].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica for Windows 6.0 (StatSoft). Проверка данных на нормальность распределения выполнена с помощью оценки W-теста Шапиро–Уилка, условие однородности групповых дисперсий проверяли с помощью теста Левена. Для оценки достоверности полученных различий использовали *t*-критерий Стьюдента для двух независимых выборок. При сравнении нескольких групп применяли однофакторный дисперсионный анализ, в котором статистическую значимость различия средних значений исследуемых показателей в группах оценивали с помощью F-критерия, для множественных сравнений использовали тест Бонферрони. Данные считались достоверными при  $p < 0.05$ . Результаты представлены как  $M \pm SE$  (среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе раннего постнатального онтогенеза активность растворимых форм АХЭ и БХЭ в гиппокампе, коре и мозжечке контрольных крыс различается по величине и имеет отличия в динамике, о чем свидетельствуют данные, представленные в табл. 1 и 2. Так, на 5-й и 10-й дни развития самая высокая активность АХЭ наблюдалась в гиппокампе, причем на 10-й день она была в 2 раза выше, чем на 5-й день, а к 30-му дню снижалась в 3 раза. В коре головного мозга активность АХЭ на 10-й день жизни была в 1.8 раза выше, а на 30-й день — в 2 раза ниже, чем на 5-й день, в то время как в мозжечке активность растворимой АХЭ постепенно увеличивалась с 5-го по 30-й день (табл. 1). Активность БХЭ в первый месяц жизни крысят во всех исследованных структурах была почти на порядок ниже, чем АХЭ, но динамика изменений активности обоих ферментов имела сходный характер, хотя к 30-му дню активность БХЭ в коре и мозжечке оставалась выше уровня 5-го дня (табл. 2). Таким образом, пик активности растворимых АХЭ и БХЭ в коре и гиппокампе контрольных животных приходится на 10-й день постнатального развития. У одномесячных крысят активность АХЭ снижается в гиппокампе и коре либо остается на прежнем уровне (в мозжечке), в то время как активность БХЭ снижается в гиппокампе, в коре остается на достигнутом к 10-му дню уровне, а в мозжечке постепенно возрастает. При сравнении активностей данных ферментов в изучаемых структурах видно, что максимальная активность АХЭ и БХЭ на 5-й и 10-й дни жизни наблюдается в гиппокампе, в то время как на 30-й день жизни активность данных ферментов выше в мозжечке.

У животных, перенесших пренатальную гипоксию, активность холинэстераз во всех изученных структурах мозга изменяется, что свидетельствует о

**Таблица 1.** Возрастная динамика активности растворимой АХЭ в структурах мозга после пренатальной гипоксии (нмоль субстрата/мг белка в мин) по сравнению с контрольными величинами

**Table 1.** Age-related dynamics of the activity of soluble AChE in brain structures after prenatal hypoxic exposure (nmol substrate/mg protein/min) compared to control values

Структура головного мозга/ Brain structure	День жизни животного/ Postnatal day	АХЭ/AChE	
		Контроль/Control	Гипоксия/Нуроксия
Гиппокамп/Hippocampus	5	12.90 ± 1.25	4.70 ± 0.84 <sup>^^</sup>
	10	24.70 ± 3.80 <sup>**</sup>	9.30 ± 1.40 <sup>***^^</sup>
	30	4.10 ± 0.17 <sup>###</sup>	5.20 ± 0.40 <sup>###^^</sup>
	<i>F-test</i>	<i>26.1335; p &lt; 0.001</i>	<i>17.4174; p &lt; 0.001</i>
Кора/Cortex	5	6.10 ± 1.05	3.10 ± 0.60 <sup>^^</sup>
	10	10.80 ± 0.60 <sup>***</sup>	7.20 ± 0.33 <sup>***^^</sup>
	30	2.60 ± 0.30 <sup>####</sup>	4.10 ± 0.30 <sup>###^^</sup>
	<i>F-test</i>	<i>41.9911; p &lt; 0.001</i>	<i>40.5684; p &lt; 0.001</i>
Мозжечок/Cerebellum	5	7.70 ± 0.84	10.20 ± 0.38 <sup>^^</sup>
	10	10.10 ± 0.90 <sup>*</sup>	7.40 ± 0.39 <sup>***^</sup>
	30	10.20 ± 0.60 <sup>*</sup>	6.70 ± 0.35 <sup>***^^</sup>
	<i>F-test</i>	<i>5.7679; p &lt; 0.05</i>	<i>27.501; p &lt; 0.001</i>

\* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$ ; \*\*\* –  $p < 0.001$  – достоверность различий активности АХЭ от P5/significance of differences in AChE activity vs. P5.

# –  $p < 0.05$ ; ## –  $p < 0.01$ ; ### –  $p < 0.001$  – достоверность различий активности АХЭ от P10/ significance of differences in AChE activity vs. P10.

^ –  $p < 0.05$ ; ^^ –  $p < 0.01$ ; ^^ –  $p < 0.001$  – достоверность различий активности АХЭ в группе гипоксии от контроля/ significance of differences in AChE activity in hypoxic group vs. control.

Число крыс в каждой возрастной группе составляло не менее 6 животных/The number of rats in each age group was  $\geq 6$ .

**Таблица 2.** Возрастная динамика активности ВХЭ в структурах мозга после пренатальной гипоксии (нмоль субстрата/мг белка в мин) по сравнению с контрольными величинами

**Table 2.** Age-related dynamics of the activity of soluble BChE in brain structures after prenatal hypoxic exposure (nmol substrate/mg protein/min) compared to control values

Структура головного мозга/ Brain structure	День жизни животного/ Postnatal day	ВХЭ/BChE	
		Контроль/Control	Гипоксия/Нуроксия
Гиппокамп/Hippocampus	5	0.80 ± 0.07	0.60 ± 0.06 <sup>^^</sup>
	10	1.80 ± 0.30 <sup>**</sup>	1.00 ± 0.20 <sup>***^</sup>
	30	0.80 ± 0.02 <sup>###</sup>	1.10 ± 0.15 <sup>***^^</sup>
	<i>F-test</i>	<i>14.3921; p &lt; 0.001</i>	<i>18.3566; p &lt; 0.001</i>
Кора/Cortex	5	0.40 ± 0.05	0.60 ± 0.06 <sup>^^</sup>
	10	0.81 ± 0.11 <sup>**</sup>	0.87 ± 0.20
	30	0.71 ± 0.06 <sup>*</sup>	1.10 ± 0.06 <sup>***^</sup>
	<i>F-test</i>	<i>8.2719; p &lt; 0.01</i>	<i>7.2469; p &lt; 0.01</i>
Мозжечок/Cerebellum	5	0.60 ± 0.07	1.01 ± 0.14 <sup>^^</sup>
	10	1.40 ± 0.05 <sup>***</sup>	1.60 ± 0.15
	30	1.90 ± 0.07 <sup>####</sup>	1.90 ± 0.22 <sup>**</sup>
	<i>F-test</i>	<i>143.326; p &lt; 0.001</i>	<i>9.2784; p &lt; 0.01</i>

\* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$ ; \*\*\* –  $p < 0.001$  – достоверность различий активности ВХЭ от P5/significance of differences in BChE activity vs. P5.

# –  $p < 0.05$ ; ## –  $p < 0.01$ ; ### –  $p < 0.001$  – достоверность различий активности ВХЭ от P10/ significance of differences in BChE activity vs. P10.

^ –  $p < 0.05$ ; ^^ –  $p < 0.01$ ; ^^ –  $p < 0.001$  – достоверность различий активности ВХЭ в группе гипоксии от контроля/ significance of differences in BChE activity in hypoxic group vs. control.

Число крыс в каждой группе составляло не менее 6 животных/The number of rats in each age group was  $\geq 6$ .

**Таблица 3.** Активность АХЭ и БХЭ в сыворотке крови крыс в первый месяц жизни (нмоль субстрата/мг белка в мин)  
**Table 3.** Serum AChE and BChE activities during the first postnatal month

День жизни животного/ Postnatal day	АХЭ/АChE		БХЭ/BChE	
	Контроль/Control	Гипоксия/Нуроксия	Контроль/Control	Гипоксия/Нуроксия
5	0.0044 ± 0.0001	0.0023 ± 0.0004 <sup>^^</sup>	0.0030 ± 0.0004	0.0011 ± 0.0005 <sup>^^</sup>
10	0.0056 ± 0.0004*	0.0040 ± 0.0001 <sup>***^^</sup>	0.0030 ± 0.0008	0.0020 ± 0.0005 <sup>^</sup>
30	0.0069 ± 0.0003 <sup>***##</sup>	0.0070 ± 0.0030 <sup>***###</sup>	0.0026 ± 0.0002	0.0030 ± 0.0003
F-test	27.541; <i>p</i> < 0.001	91.2195; <i>p</i> < 0.001	2.1537; <i>p</i> > 0.05	2.05382; <i>p</i> > 0.05

\* – *p* < 0.05; \*\* – *p* < 0.01; \*\*\* – *p* < 0.001 – достоверность различий активности холинэстераз от 5-го дня жизни постнатального онтогенеза/significance of differences in cholinesterase activities vs. P5.

# – *p* < 0.05; ## – *p* < 0.01; ### – *p* < 0.001 – достоверность различий активности холинэстераз от 10-го дня жизни постнатального онтогенеза/significance of differences in cholinesterase activities vs. P10.

^ – *p* < 0.05; ^^ – *p* < 0.01; ^^ – *p* < 0.001 – достоверность различий активности холинэстераз в группе гипоксии от контроля/significance of differences in cholinesterase activities in hypoxic group vs. control/

Число крыс в каждой группе составляло не менее 8 животных/ The number of rats in each age group was ≥ 8.

чувствительности холинергической системы к действию пренатальной гипоксии. Выявлено, что действие пренатальной гипоксии приводит к достоверному снижению активности растворимой АХЭ в гиппокампе – в 2.7 и 2.6 раза соответственно на 5-й и 10-й дни жизни, а в коре в 2 и 1.5 раза (табл. 1). В то же самое время к концу 1-го месяца жизни у крысят, перенесших пренатальную гипоксию, активность АХЭ возрастает в 1.3 раза в гиппокампе и в 1.6 раза в коре головного мозга по сравнению с контрольной группой животных. В мозжечке у 5-дневных крысят активность АХЭ в подопытной группе была выше в 1.33 раза по сравнению с контрольной группой, а на 10-й и 30-й дни жизни была ниже в 1.4 и 1.5 раза соответственно. При изучении влияния пренатальной гипоксии на активность растворимой БХЭ отмечался иной характер изменений, чем у АХЭ. Так, в коре активность БХЭ была достоверно выше, чем в контрольной группе на 5 и 30 дни раннего онтогенеза, в мозжечке активность фермента была достоверно выше (в 1.7 раза) только на 5-й день. На 10-й день отмечалась лишь тенденция к увеличению (в 1.14 раза), а к 30-му дню жизни достоверных изменений активности БХЭ между контрольной и подопытной группами не наблюдалось (табл. 2).

Помимо активности растворимых форм холинэстераз в структурах головного мозга, нами также было исследовано изменение активности АХЭ и БХЭ в сыворотке крови крыс на 5-й, 10-й и 30-й дни жизни (табл. 3). Выявлено, что в сыворотке крови крыс активность АХЭ почти вдвое выше, чем БХЭ на всех исследованных сроках развития. У контрольных животных активность АХЭ достоверно возрастает почти в 1.6 раза в течение первого месяца жизни по сравнению с 5-м днем постнатального онтогенеза, в то время как активность БХЭ практически не изменяется и остается на уровне 5-дневных животных на всех исследованных сроках. Динамика изменения активности АХЭ у кры-

сят, перенесших пренатальную гипоксию, сходна с таковой у контрольных животных, хотя к концу первого месяца жизни она возросла почти в 3 раза. Активность БХЭ у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, также возросла в 3 раза к 30-му дню жизни и достигала значений данного показателя у контрольных животных в этот период онтогенеза (табл. 3). Однако пренатальная гипоксия приводила к снижению активности обоих ферментов в сыворотке крови крысят. Так, активность АХЭ на 5-й день жизни была ниже в 1.7 раза и на 10-й день в 1.4 раза по сравнению с контролем, в то время как на 30-й день развития достоверных различий обнаружено не было. Аналогичные изменения наблюдались и при изучении активности БХЭ. На 5-й день ее активность была ниже в 3 раза, на 10-й день в 1.5 раза, а на 30-й день жизни уровень активности фермента не отличался от контрольных величин.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Холинергическая система является одной из основных нейромедиаторных систем мозга млекопитающих, развитие и формирование которой играют ключевую роль в становлении когнитивных функций. Активность АХЭ, основного гидролитического фермента, расщепляющего ацетилхолин, определяет скорость синаптической передачи. Помимо этого, АХЭ участвует в формировании, росте аксонов и установлении синаптических контактов [9, 27]. Любые изменения в содержании либо активности данного фермента, возникающие во время формирования и развития головного мозга, могут влиять на процессы обучения и памяти, а также становления нервной системы в целом. О возможном участии БХЭ в холинергической нейротрансмиссии свидетельствуют данные, указывающие на то, что при отсутствии гена АХЭ, БХЭ может брать на себя ее роль в нейротрансмиссии, а также участ-

воват в формировании когнитивных функций [18]. В связи с этим выявленная нами динамика изменения активности холинэстераз в раннем онтогенезе интактных животных, а также после пренатальной гипоксии может отражать степень участия данных ферментов в перечисленных физиологических процессах.

Известно, что в структурах головного мозга крыс рост нейронов и аксонов протекает в первые две недели постнатального развития животных, в течение которых образование холинергических синапсов возрастает, а к концу первого месяца формирование нейрональных связей подходит к завершению. Поэтому обнаруженное нами повышение активности растворимых форм АХЭ и БХЭ в коре, гиппокампе и мозжечке крыс на 10-й день жизни и постепенное ее снижение к 30-му дню как в контрольной группе, так и у животных, перенесших пренатальную гипоксию, отражает специфическую роль данных ферментов в формировании исследованных структур развивающегося мозга. Полученные нами данные свидетельствуют, что в коре и гиппокампе крыс активность растворимой АХЭ наиболее высока на 10-й день жизни – в период наиболее интенсивного развития нейрональных сетей и синаптических контактов, в то время как к 30-му дню постнатального онтогенеза, когда интенсивное формирование нейрональных связей подходит к завершению, активность АХЭ в обеих структурах резко снижается. Тем не менее в мозжечке активность растворимой АХЭ к концу первого месяца жизни крыс остается на уровне 10-го дня жизни.

Динамика изменения активности БХЭ свидетельствует об отличии функций данного фермента от АХЭ, так как заметных изменений его активности в первый месяц жизни крыс нами не обнаружено. Можно предположить, что БХЭ может выполнять запасную роль и быть задействована при необходимости как в гидролизе АХ, так и в расщеплении и удалении вредных соединений из ткани головного мозга, что в настоящее время считается одной из главных функций данного фермента [28]. Если АХЭ и БХЭ рассматривать как белки, обладающие нейротрофическими свойствами, а именно участвующие в пролиферации и развитии нейронов [9], то наши данные согласуются с представлениями о роли нейротрофических факторов в развитии головного мозга, когда происходит избыточное закладывание нейронов в раннем онтогенезе и они конкурируют за трофические факторы, причем те нейроны, которые не получили трофическую поддержку, элиминируются путем апоптоза [29, 30]. Полученные нами результаты также согласуются с данными, свидетельствующими о более высоком уровне апоптоза в гиппокампе в первые 7 дней постнатального онтогенеза [31], поскольку наиболее низкий уровень активности растворимых АХЭ и БХЭ, обладающих нейротрофи-

ческими свойствами, в гиппокампе и других структурах мозга выпадает на 5-й день жизни крыс. Важно отметить, что активность изученных нами ферментов в гиппокампе, коре и мозжечке весьма отличается по своей величине. Известно, что структуры мозга развиваются гетерохронно [32], поэтому активность АХЭ и БХЭ в ходе онтогенеза может быть различной, что мы и наблюдали в наших экспериментах, где в контрольной группе животных активность растворимой АХЭ, наиболее высокой в гиппокампе по сравнению с корой и мозжечком на 5-й и 10-й дни жизни постнатального развития.

Известно, что пренатальная гипоксия является одной из причин нарушения нормального развития головного мозга и формирования его функций в онтогенезе [33]. Патологические изменения, наблюдаемые при недостатке кислорода, чаще всего отмечаются в тех структурах, которые были исследованы в данной работе (гиппокамп, кора и мозжечок), что не может не отразиться на формировании их холинергической иннервации в ходе постнатального развития [34–36]. Эти структуры связаны с организацией поведения животных, которые включают в себя двигательные акты, выработанные на ранних этапах постнатального развития. Более того, кора и гиппокамп вовлечены в процессы формирования когнитивных функций, таких как обучение и память, которые активно формируются в первый месяц развития [34, 37]. При этом характер нарушений функционального развития нервной системы будет зависеть от периода эмбриогенеза, в который происходило действие патологических факторов [33, 36, 38]. Это и обусловило выбор 14-го дня эмбрионального развития (Е14) для изучения действия пренатальной гипоксии в нашей работе, поскольку именно в этот период начинают формироваться крупные нейроны мозжечка, коры и гиппокампа.

Анализ влияния пренатальной гипоксии на активность растворимых холинэстераз в структурах головного мозга, проведенный в нашем исследовании, показал, что патологическое действие гипоксии на Е14 приводит к достоверным изменениям активности АХЭ и БХЭ в постнатальном онтогенезе. Так, в гиппокампе активность АХЭ и БХЭ была ниже по сравнению с контрольной группой на 5-й и 10-й день жизни. Тем не менее к концу первого месяца жизни активность растворимых форм обоих ферментов была выше у животных, подвергавшихся пренатальной гипоксии, что может иметь как компенсаторный характер, так и приводить к повышенному расщеплению АХ и оказывать влияние на формирование синаптической пластичности. Полученные нами данные об изменении активности растворимой АХЭ в коре головного мозга крыс согласуются с литературными данными, свидетельствующими о снижении активности как растворимой, так и мембраносвязанной форм АХЭ на

5-й и 10-й дни жизни животных, перенесших пренатальную гипоксию [39]. Кроме изменений в коре, нами также выявлено снижение активности растворимой АХЭ в мозжечке на всех изученных сроках жизни, что также отражает характер влияния гипоксии на формирование и функции данной структуры мозга, которой в настоящее время, помимо координации двигательной активности, отводится важная роль во многих когнитивных и эмоциональных процессах [40]. Выявленные нами изменения в активности растворимой нейротрофической формы АХЭ в изученных структурах могут отражать не только изменения в развитии холинергической системы, которые влияют на формирование когнитивных и двигательных функций животных, но также приводят к морфологическим нарушениям нервной ткани [34, 41, 42]. Так, в литературе описано, что пренатальная гипоксия на E14 приводит у 5-дневных крысят к отставанию в развитии сенсомоторной коры, что проявляется в большем объеме межклеточного пространства, недостаточном числе дифференцированных нейронов и отсутствии зрелых синапсов. У 2-недельных животных также обнаруживались признаки деструкции нервных клеток [43]. С другой стороны, повышение активности растворимой АХЭ в коре и гиппокампе у гипоксических крысят в возрасте 30 дней может вызывать повышение гидролиза АХ, приводя к его дефициту и нарушению когнитивных функций [44, 45].

Помимо изменения активности растворимой АХЭ в постнатальном онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию, нами также показано, что в коре и мозжечке таких животных активность БХЭ возрастает по сравнению с контролем. Повышение активности БХЭ может быть обусловлено тем фактом, что этот фермент способен как компенсировать дефицит АХЭ [18], так и принимать участие в деградации целого ряда других субстратов, действуя как сериновая гидролаза. В настоящее время БХЭ является важной терапевтической мишенью при разных типах патологий и исследования ее динамики в разных структурах мозга и сыворотке крови в постнатальном онтогенезе животных в норме и после пренатального стресса представляет большой интерес [46].

Анализ АХЭ и БХЭ в сыворотке крови крыс показал, что в раннем онтогенезе активность АХЭ почти вдвое выше, чем БХЭ, и статистически достоверно повышается почти в полтора раза к концу первого месяца жизни, в то время как активность БХЭ остается практически неизменной. У крыс, перенесших пренатальную гипоксию, активность обоих ферментов на 5-й и 10-й дни жизни была ниже, чем в контроле, что сопоставимо с результатами, полученными в структурах головного мозга. Тем не менее на 30-й день жизни достоверных различий между контрольными и гипоксическими животными уже не наблюдалось. Так как перифе-

рический АХ принимает участие в регуляции важных клеточных функций, таких как деление, межклеточные взаимодействия, секреция гормонов и иммунитет [47, 48], активность АХЭ и БХЭ в сыворотке крови чрезвычайно важна для поддержания гомеостаза организмов, а также готовности к ответу на разные виды стресса. В этой связи следует отметить, что уровень содержания и активности АХЭ и БХЭ в плазме крови используется как диагностический критерий для оценки наличия патологий мозга, в частности, когнитивных нарушений и болезни Альцгеймера [47–49].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, пренатальная гипоксия на 14-й день эмбриогенеза крыс вызывает достоверные изменения активности растворимых форм АХЭ и БХЭ в мозжечке, гиппокампе и коре головного мозга, что свидетельствует о нарушении формирования и функционирования их холинергических систем. Подобные нарушения могут приводить к отставанию процессов формирования двигательной активности и когнитивных функций в раннем онтогенезе животных и человека. Снижение активности АХЭ и БХЭ в сыворотке крови крыс, перенесших пренатальную гипоксию, свидетельствует о нарушении не только центральной, но и периферических холинэстеразных систем, что может приводить к изменению гомеостаза всего организма. Это дает основание считать, что показатели активности АХЭ и БХЭ в сыворотке крови можно использовать в качестве маркеров нарушения холинергической системы у потомства после перенесенной пренатальной гипоксии, в частности, у детей с задержкой внутриутробного развития.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзаданий АААА-А18-118012290373-7 и АААА-А19-1190212901-1.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все процедуры по уходу и использованию животных выполняли в соответствии с требованиями Этических комитетов НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта и Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (ИЭФБ РАН), European Communities Council Directive 1986 (86/609/EEC) и “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”.

Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Евсюкова И.И., Арутюнян А.В., Додхоев Д.С., Ковальчук-Ковалевская О.В.* Механизмы задержки внутриутробного развития ЦНС ребенка при хронической плацентарной недостаточности. *Ж. акуш. и жен. бол.* 59 (4): 39–45. 2010. [*Evsyukova I.I., Arutyunyan A.V., Dodkhoev D.S., Kovalchuk-Kovalevskaya O.V.* Mechanisms for delaying intrauterine development of the central nervous system of a child with chronic placental insufficiency. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej.* 59 (4): 39–45. 2010 (In Russ.)].
2. *Андреева А.А., Евсюкова И.И., Опарина Т.И., Арутюнян А.В.* Продукция окиси азота и состояние центральной гемодинамики у новорожденных, здоровых и перенесших гипоксию. *Педиатрия. Ж. им. Г.Н. Сперанского.* 83 (1): 1–5. 2004. [*Andreeva A.A., Evsyukova I.I., Oparina T.I., Arutyunyan A.V.* Production of nitric oxide and the state of central hemodynamics in newborns, healthy and undergoing hypoxia. *Pediatrija (Moskva) Zhurnal imeni G.N. Speranskogo.* 83 (1): 1–5. 2004 (In Russ.)].
3. *Гладких О.Ю., Кисляк Г.И., Янчук О.Я.* Показатели здоровья у детей с задержкой внутриутробного развития. Материалы I Международного конгресса по перинатальной медицине. М. С. 71. 2011. [*Gladkikh O.Yu., Kislyak G.I., Yanchuk O.Ya.* Health indicators in children with intrauterine growth retardation. *Materials of the International Congress on Perinatal Medicine.* M. S. 71. 2011 (In Russ.)].
4. *Моралев С.Н., Розенгарт Е.В.* Современные представления о структуре и каталитических свойствах холинэстераз позвоночных и беспозвоночных. *Ж. эвол. биохим. физиол.* 35: 3–14. 1999. [*Moralev S.N., Rozengart E.V.* Modern views on the structure and catalytic properties of vertebral and invertebrate cholinesterases. *Zh. Evol Biokhim Fiziol.* 35: 3–14. 1999. (In Russ.)].
5. *Grisaru D., Sternfeld M., Eldor A., Glick D., Soreq H.* Structural roles of acetylcholinesterase variants in biology and pathology. *Eur. J. Biochem.* 264: 672–686. 1999.
6. *Soreq H., Reed G. A.* acetylcholinesterase – new roles for an old actor. *Nature Rev. Neurosci.* 2: 294–302. 2001.
7. *Small D.H., Reed G., Whitefield B., Nurcombe V.* Colinergic regulation of neurite outgrowth from isolated chick sympathetic neurons in culture. *J. Neurosci.* 15: 144–151. 1995.
8. *Appleyard M.E.* Noncholinergic functions of AChE. *Biochem. Soc. Trans.* 22: 749–755. 1994.
9. *Halliday A.C., Greenfield S.A.* From protein to peptides: spectrum of non-hydrolytic functions of acetylcholinesterase. *Protein Pept. Lett.* 19: 165–172. 2012.
10. *Adamec R., Head D., Soreq H., Blundell J.* The role of the read through variant of acetylcholinesterase in anxiogenic effects of predator stress in mice. *Behav. Brain. Res.* 189: 180–190. 2008.
11. *Sáez-Valero J., González-García C., Ceña V.* Acetylcholinesterase activity and molecular isoform distribution are altered after focal cerebral ischemia. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 117: 240–244. 2003.
12. *Bohnen N.I., Kaufer D.I., Hendrickson R., Ivanco L.S., Lopresti B.J., Constantine G.M., Mathis Ch.A., Davis J.G., Moore R.Y., Dekosky S.T.* Cognitive correlates of cortical cholinergic denervation in Parkinson's disease and parkinsonian dementia. *J. Neurol.* 253: 242–247. 2006.
13. *Rinne J.O., Kaasinen V., Järvenpää T., Nägren K., Roivainen A., Yu M., Oikonen V., Kurki T.* Brain acetylcholinesterase activity in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 74: 113–115. 2003.
14. *Bullock R., Lane R.* Executive dyscontrol in dementia, with emphasis on subcortical pathology and the role of butyrylcholinesterase. *Curr. Alzheimer Res.* 4: 277–293. 2007.
15. *Darvesh S., Grantham D.L., Hopkins D.A.* Distribution of butyrylcholinesterase in the human amygdala and hippocampal formation. *J. Comp. Neurol.* 393: 374–390. 1998.
16. *Koenigsberger C., Hammond P., Brimijoin S.* Developmental expression of acetyl- and butyrylcholinesterase in the rat: enzyme and mRNA levels in embryonic dorsal root ganglia. *Brain Res.* 787: 248–258. 1998.
17. *Masson P., Lockridge O.* Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and hysteretic behavior. *Arch. Biochem. Biophys.* 494: 107–120. 2010.
18. *Li B., Stribley J.A., Ticu A., Xie W., Schopfer L.M., Hammond P., Brimijoin S., Hinrichs S.H., Lockridge O.* Abundant tissue butyrylcholinesterase and its possible function in the acetylcholinesterase knockout mouse. *J. Neurochem.* 75 (3): 1320–1331. 2000.
19. *Kilkenny C., Browne W.J., Cuthill I.C., Emerson M., Altman D.G.* Improving bioscience research reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *PLoS Biol.* 8: e1000412. 2010.
20. *Дубровская Н.М., Журавин И.А.* Онтогенетические особенности поведения крыс, перенесших гипоксию на 14-е или 18-е сутки эмбриогенеза. *Ж. высш. нервн. деят.* Т. 58 (6): 718–727. 2008. [*Dubrovskaya N.M., Zhuravin I.A.* Ontogenetic features of the behavior of rats undergoing hypoxia on the 14th or 18th day of embryogenesis. *J. Neurosci. Behav. Physiol.* 58 (6): 718–727. 2008. (In Russ.)].
21. *Резников К.Ю.* Пролиферация клеток мозга позвоночных в условиях нормального развития мозга и при его травме. М. Наука. 1981. [*Reznikov K. Yu.* Proliferatsiya kletok mozga pozvonochnyh v usloviyah normal'nogo razvitija mozga i pri ego travme. [The proliferation of vertebral brain cells under conditions of normal brain development and trauma]. М. Nauka. 1981. (In Russ.)].
22. *Miller M.W.* Effects of prenatal exposure to ethanol on neocortical development: II. Cell proliferation in the ventricular and subventricular zones of the rat // *J. Comp. Neurol.* 287: 326–338. 1989.
23. *Ещенко Н.Д., Путилина Ф.Е., Галкина О.В.* Биохимия развивающегося мозга. Избранные разделы. Изд-во Санкт-Петербургского университета. 2013. [*Yeshchenko N.D., Putilina F.Ye., Galkina O.V.* Biokhimiya razvivayushchegosya mozga. Izbrannyye razdely. [Yeshchenko N.D., Putilina F.Ye., Galkina O.V. Biokhimiya razvivayushchegosya mozga. Izbrannyye razdely.



- [Biochemistry of the developing brain. Selected sections]. Izd-vo Sankt-Peterburgskogo Universiteta. 2013].
24. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 6th ed. New York: Elsevier. Academic Press. 456. 2007.
  25. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.Jr., Feather-Stone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7: 88–95. 1961.
  26. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248–254. 1976.
  27. Sharma K.V., Koenigsberger C., Brimijoin S., Bigbee J.W. Direct evidence for an adhesive function in the noncholinergic role of acetylcholinesterase in neurite outgrowth. *J. Neurosci. Res.* 63: 165–175. 2001.
  28. Lockridge O. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. *Pharmacol. Ther.* 148: 34–46. 2015.
  29. Purves D., Snider W.D., Voyvodic J.T. Trophic regulation of nerve cell morphology and innervation in the autonomic nervous system. *Nature.* 336: 123–128. 1988.
  30. Oppenheim R.W. Cell death during development of the nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* 14: 453–501. 1991.
  31. White L.D., Barone S. Jr. Qualitative and quantitative estimates of apoptosis from birth to senescence in the rat brain. *Cell Death Differ.* 8: 345–356. 2001.
  32. Gilbert E.A., Lim Y.H., Vickaryous M.K., Armstrong C.L. Heterochronic protein expression patterns in the developing embryonic chick cerebellum. *Anat. Rec. (Hoboken).* 295: 1669–1682. 2012.
  33. Nalivaeva N.N., Turner A.J., Zhuravin I.A. Role of prenatal hypoxia in brain development, cognitive functions and neurodegeneration. *Front. Neurosci.* 12: 825. 2018.
  34. Журавин И.А., Туманова Н.Л., Васильев Д.С. Изменения адаптивных механизмов мозга в онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию. *Докл. Акад. Наук.* 425 (1): 123–125. 2009. [Zhuravin I.A., Tumanova N.L., Vasiliev D.S. Changes in the adaptive mechanisms of the brain in the ontogenesis of rats subjected to prenatal hypoxia. *Dokl. Acad. Nauk.* 425 (1): 123–125. 2009. (In Russ.)].
  35. Rees S., Inder T. Fetal and neonatal origins of altered brain development. *Early Hum. Dev.* 81: 753–761. 2005.
  36. Vasilev D.S., Dubrovskaya N.M., Tumanova N.L., Zhuravin I.A. Prenatal hypoxia in different periods of embryogenesis differentially affects cell migration, neuronal plasticity and rat behavior in postnatal ontogenesis. *Front. Neurosci.* 10: 126. 2016.
  37. Журавин И.А., Дубровская Н.М., Туманова Н.Л. Постнатальное физиологическое развитие крыс после острой пренатальной гипоксии. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 89: 522–532. 2003. [Zhuravin I.A., Dubrovskaya N.M., Tumanova N.L. Postnatal physiological development of rats after acute prenatal hypoxia. *Ross. Fiziol. Zh. Im I.M. Sechenova.* 89: 522–532. 2003. (In Russ.)].
  38. Кассиль В.Г., Отеллин В.А., Хожжай Л.И., Косткин В.Б. Критические периоды развития глобального мозга. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 86(11): 1418–1425. 2000. [Kassil V.G., Otellin V.A., Khozhai L.I., Kostkin V.B. Critical periods of development of the global brain. *Ross. Fiziol. Zh. Im I.M. Sechenova.* 86 (11): 1418–1425. 2000. (In Russ.)].
  39. Кочкина Е.Г., Плеснева С.А., Журавин И.А., Тернер Э.Дж., Наливаева Н.Н. Влияние гипоксии на активность холинэстераз в сенсорной коре мозга крыс. *Ж. эвол. биохим. физиол.* 52: 95–102. 2015. [Kochkina E.G., Plesneva S.A., Zhuravin I.A., Turner A.J., Nalivaeva N.N. Effect of hypoxia on the activity of cholinesterases in the sensorimotor cortex of rat brain. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 52: 95–102. 2015. (In Russ.)].
  40. Бархатова В.П. Нейротрансмиттерная организация и функциональное значение мозжечка. *Анн. клин. Экспер. неврол.* 4 (3): 44–49. 2010. [Barkhatova V.P. Neurotransmitter organization and functional significance of the cerebellum. *Ann. Clin. Exp. Neurol.* 4 (3): 44–49. 2010. (In Russ.)].
  41. Dubrovskaya N.M., Nalivaeva N.N., Vasilev D.S., Bagrova D.I., Zhuravin I.A. Mechanisms of short-term working memory deficit. In: “Short-Term Memory: New Research”. Eds: G. Kalivas and S.F. Petralia. Nova Science Publishers. Inc. NY. 6: 155–173. 2012.
  42. Журавин И.А., Туманова Н.Л., Дубровская Н.М., Федосеева К.Н. Нарушение формирования старой и новой коры при изменении условий эмбрионального развития. *Ж. эволю биохим. физиол.* 39 (6): 608–618. 2003. [Zhuravin I.A., Tumanova N.L., Dubrovskaya N.M., Fedoseeva K.N. Disorder in the formation of the old and new cerebral cortex in changing conditions of embryonal development. *Zh. Evol. Biochem. Physiol.* 39 (6): 608–618. 2003. (In Russ.)].
  43. Туманова Н.Л., Васильев Д.С., Дубровская Н.М. Ультраструктурные изменения в сенсорной коре при отставании развития двигательного поведения в раннем онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию. *Цитология.* 5: 390–397. 2018. [Tumanova N.L., Vasilev D.S., Dubrovskaya N.M. Ultrastructural changes in the sensorimotor cortex with a lag in the development of motor behavior in the early ontogenesis of rats undergoing prenatal hypoxia. *Tsitologiya.* 5: 390–397. 2018. (In Russ.)].
  44. Hasseimo M.E. The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr. Opin. Neurobiol.* 16: 710–715. 2006.
  45. Zhang Y., Wang Q., Chen H., Liu X., Lv K., Wang T., Wang Y., Ji G., Cao H., Kan G., Li Y., Qu L. Involvement of cholinergic dysfunction and oxidative damage in the effects of stimulated weightlessness on learning and memory in rats. *BioMed. Res. Intern. Art. ID:2547532.* 2018.
  46. Ha Z.Y., Mathew S., Yeong K.Y. Butyrylcholinesterase: A Multifaceted Pharmacological Target and Tool. *Curr. Protein Pept. Sci.* 21: 99–109. 2020.
  47. Kawashima K., Fujii T., Moriwaki Y., Misawa H. Critical roles of acetylcholine and the muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors in the regulation of immune function. *Life Sci.* 91: 1027–1032. 2012.
  48. Chen V.P., Gao Y., Geng L., Stout M.B., Jensen M.D., Brimijoin S. Butyrylcholinesterase deficiency promotes adipose tissue growth and hepatic lipid accumulation in male mice on high-fat diet // *Endocrinology.* 157: 3086–3095. 2016.

49. Журавин И.А., Наливаева Н.Н., Козлова Д.И., Кочкина Е.Г., Федорова Я.Б., Гаврилова С.И. Активность холинэстераз и неприлизина плазмы крови как потенциальные биомаркеры синдрома мягкого когнитивного снижения и болезни Альцгеймера. Журн. неврол. психиатр. им. С.С. Корсакова. 115 (12): 110–117. 2015. [Zhuravin I.A., Nalivaeva N.N., Kozlova D.I., Kochkina E.G., Fedorova Ya.B., Gavrilova S.I. The activity of blood serum cholinesterases and neprilysin as potential biomarkers of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova. 115 (12): 110–117. 2015. (In Russ.).

## EFFECT OF PRENATAL HYPOXIA ON THE ACTIVITY OF SOLUBLE FORMS OF CHOLINESTERASES IN BRAIN STRUCTURES AND OF RATS IN EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS

A. Yu. Morozova<sup>a</sup>, A. V. Arutjunyan<sup>a, #</sup>, P. Yu. Morozova<sup>c</sup>, L. S. Kozina<sup>d</sup>,  
I. A. Zhuravin<sup>b</sup>, and N. N. Nalivaeva<sup>b</sup>

<sup>a</sup> D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, 199034, Russia

<sup>b</sup> Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

<sup>c</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

<sup>d</sup> St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia

<sup>#</sup>e-mail: alexarutiunjan@gmail.com

The dynamics of soluble AChE and BChE (EC 3.1.1.7; EC 3.1.1.8) in the hippocampus, cortex, cerebellum and blood serum of control rats and rats exposed to prenatal hypoxia was studied on days 5, 10 and 30 of postnatal development. The activity of soluble AChE in all brain structures was found to reach its maximum on postnatal day 10, either persisting then at this level (in the cerebellum and cortex) or decreasing by day 30 (in the hippocampus). Similar changes were found in the activity of BChE, which was roughly one level of magnitude lower than of AChE in all the brain structures studied in this work. Prenatal hypoxic exposure on day 14 of embryonic development led to statistically significant changes in the activity of soluble AChE and BChE in all the studied brain structures, as well as in blood serum. In rats exposed to prenatal hypoxia, serum AChE and BChE activities on postnatal days 5 and 10 were significantly lower while on day 30 indistinguishable from the control values. Thus, oxygen deficit in the maternal organism during pregnancy significantly affects the activity of soluble forms of the key enzymes of the central and peripheral cholinergic systems, indicating possible changes in the formation of these systems in early ontogenesis. This may lead both to impaired neurogenesis and malformation of the motor and cognitive functions and general homeostatic imbalance during animal and human development.

**Keywords:** early ontogenesis, prenatal hypoxia, cholinesterases, AChE, BChE, cholinergic system, brain cortex, hippocampus, cerebellum, blood serum