
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**РОЛЬ ОКСИТОЦИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В КОРРЕКЦИИ
НАРУШЕНИЙ НЕЙРОГЕНЕЗА, ВЫЗВАННЫХ СТРЕССОМ РАННЕГО
ПЕРИОДА ЖИЗНИ: ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO***

© 2025 г. Е. Д. Хилажева¹, А. Н. Лукьянчук^{1,2}, Ю. А. Панина¹, О. Л. Лопатина¹,
Н. А. Малиновская¹, А. В. Благова², А. Б. Салмина^{1,2}, Ю. К. Комлева^{2,*}

¹Красноярский государственный медицинский университет им. проф. Войно-Ясенецкого,
Красноярск, Россия

²Российский центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия

*E-mail: yuliakomleva@mail.ru

Поступила в редакцию 06.08.2025 г.

После доработки 16.09.2025 г.

Принята к публикации 18.09.2025 г.

Стресс раннего периода жизни (СРПЖ) вызывает долговременные изменения в нейропластичности, что ассоциируется с нарушением работы окситоцинергической системы. Однако молекулярные механизмы этих нарушений и возможности их коррекции остаются недостаточно изученными. В данной работе исследовано влияние СРПЖ, экзогенного окситоцина (ОХТ) и антагониста рецепторов окситоцина (атосибана) на клеточные процессы, связанные с гомеостазом и нейрогенезом в нейросферах *in vitro*. Нейросферы выделялись из субвентрикулярной зоны и пириформной коры головного мозга мышей линии CD 1 (возраст P60) контрольной и СРПЖ-групп с последующим воздействием окситоцином (1 мкМ) или атосибаном (1 мкМ). Далее количественно оценивались уровень апоптоза, степень повреждения ДНК (H2AX) и экспрессия генов-маркеров нейрогенеза *PSA-NCAM*, *Dcx*, *Tbr1*, *Gad67* и *Vglut1* (qRT-PCR). Полученные данные показали, что СРПЖ увеличивал уровень апоптоза клеток и снижал экспрессию генов *PSA-NCAM*, *Dcx* и *Gad67*, при этом окситоцин приводил к уменьшению количества апоптотических клеток, но не оказывал влияния на экспрессию изучаемых генов, за исключением подавления *Tbr1*. В контрольных культурах окситоцин повышал экспрессию *PSA-NCAM* и *Tbr1*, одновременно снижая уровень *Gad67*, что может отражать его регулирующее влияние на баланс возбуждающей и тормозной передачи в развивающейся нейрональной сети. Стимуляция атосибаном при этом приводила к усилению апоптоза в контрольных образцах, подчеркивая роль окситоцинергической активности в поддержании жизнеспособности нейронов даже при отсутствии стресс-факторов. Полученные данные свидетельствуют о том, что СРПЖ вызывает долгосрочные нарушения нейрогенеза и клеточного гомеостаза, а модулирующее действие ОХТ зависит от исходного состояния клеток. Эти результаты подчеркивают потенциальную роль окситоцинергической системы в коррекции последствий СРПЖ.

Ключевые слова: стресс раннего периода жизни, окситоцин, нейрогенез, нейроны с пролонгированной незрелостью, апоптоз, нейропластичность, нейросфера

DOI: 10.7868/S2658655X25120067

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия окситоцин (ОХТ) привлекает особое внимание не только как классический гормон репродуктивной системы, но и как важнейший нейропептид, который выполняет широкий спектр функций в центральной нервной системе и периферических органах [1–5]. Изначально известный как гормон, регулирующий родовую деятельность и лактацию, в настоящее время окситоцин рассматривается как один из ключевых эндогенных модуляторов социального поведения [6, 7], стресс-реактивности [8], нейропластичности [9] и эмоционального состояния [10, 11].

Особую актуальность изучение окситоцина приобрело в контексте стресс-индуцированных нарушений развития мозга [12, 13]. Стресс раннего периода жизни (СРПЖ) – одна из наиболее значимых моделей хронического стресса, ассоциированная с долговременными изменениями функций центральной нервной системы, включая нарушение нейрогенеза, синаптической пластичности и баланса возбуждающих и тормозных сигналов [14, 15]. Накопленные данные свидетельствуют о том, что последствия СРПЖ сохраняются на протяжении всей жизни и могут способствовать развитию тревожных, депрессивных и когнитивных расстройств во взрослом возрасте, а также повышать риск нейродегенеративных заболеваний [16–18].

Одним из участников сложной системы адаптации мозга к стрессу является окситоцинергическая система [19]. Экспериментальные и клинические исследования показали, что окситоцин способен модулировать реакцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси на стресс, снижать уровень кортизола и других стрессовых гормонов [20, 21], а также опосредованно регулировать нейровоспаление [22, 23]. Наряду с этим окситоцин активирует механизмы нейропластичности – стимулирует пролиферацию и миграцию нейрональных предшественников, модулирует ангиогенез и формирование функционально зрелых нейронных цепей в ключевых структурах мозга, включая гиппокамп, пириформную кору и обонятельную луковицу [24–26].

Однако при СРПЖ происходит нарушение секреции окситоцина и экспрессии его рецепторов (ОХТР), что сопровождается снижением чувствительности тканей к нейропептиду [27]. Показано, что хронический стресс в раннем постнатальном периоде может снижать уровень ОХТР в медиальной префронтальной коре, миндале и пириформной коре – структурах, критически важных для регуляции эмоций, памяти и социального взаимодействия [28, 29]. Исследование окситоциновой системы при различных протоколах материнской изоляции на различных моделях грызунов позволяет предположить, что ОХТР участвует в нарушениях эмоционального поведения у приматов [30]. Постнатальная материнская изоляция приводит к снижению количества ОХТ+нейронов в гипоталамусе, уменьшению экспрессии ОХТР и снижению уровня окситоцина в некоторых областях мозга [30, 31]. Эти изменения нарушают способность окситоцина поддерживать процессы нейрогенеза и зрелости нейрональных популяций. В частности, описано увеличение числа нейробластов, экспрессирующих DCX – маркер пролиферирующих и мигрирующих нейрональных предшественников, а также нарушение формирования глутаматергических и ГАМК-ергических нейронных сетей [32]. Кроме того, окситоцин принимает участие в регуляции сосудистой пластичности [33]. Стресс может вызывать дисбаланс ангиогенеза и сосудистой регрессии, что особенно опасно для областей мозга с высокой метаболической активностью [34].

На фоне этих данных особый интерес представляет возможность экзогенного воздействия на окситоцинергическую систему. Введение окситоцина или модуляция активности его рецепторов рассматривается как перспективный путь коррекции последствий раннего стресса, восстановления нейропластического и сосудистого потенциала мозга [12]. Однако роль экзогенного окситоцина и антагонистов ОХТР в регуляции апоптоза, повреждения ДНК и экспрессии ключевых генов нейрогенеза в условиях СРПЖ до настоящего времени изучена недостаточно.

В связи с этим целью настоящего исследования было определить влияние экзогенного окситоцина и его антагониста атосибана на уровень апоптоза, повреждения ДНК и экспрессию маркеров незрелых нейронов и их дифференцировки в нейросферах пириформной коры мышей CD1 после моделирования СРПЖ. Полученные данные позволят уточнить фундаментальные механизмы нейроэндокринной регуляции и оценить перспективы использования окситоцина для профилактики и терапии стресс-ассоциированных когнитивных нарушений.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные

В исследовании использовали самцов мышей линии CD1 в возрасте 2 месяцев (P60) ($n = 20$). Животные содержались в стандартных условиях вивария: в клетках при свободном доступе к воде и корму, при постоянной температуре $21 \pm 1^\circ\text{C}$ и стандартном световом режиме (12 ч свет / 12 ч темнота).

Моделирование стрессового воздействия в раннем постнатальном периоде (СРПЖ)

Модель хронического стресса раннего постнатального периода включала ежедневное разлучение матери с потомством на 3 ч в течение 13 дней (с P2 по P14) [35]. Размер групп стандартизировали до 10 самцов. Начиная с P22, все животные были отсажены от матери.

Выделение и культивирование незрелых нейронов in vitro

На 60-й день жизни (P60) из мышей контрольной и СРПЖ группы выделяли клетки субвентрикулярной зоны и пириформной коры головного мозга. Полученные клетки диссоциировали механически и высевали в среду NeuroCult™ NS-A Proliferation Kit (StemCell, США) для формирования нейросфер. Культивирование проводили в CO_2 -инкубаторе (37°C , 5% CO_2) в течение 5 суток. Затем нейросферы диссоциировали, клетки высевали на планшеты для адгезии, после чего добавляли клетки пириформной коры. Культуральную среду дополняли 10%-ной эмбриональной бычьей сыворотки (FBS). В ходе эксперимента клетки подвергали воздействию окситоцина (ОХТ, 1 мкМ), антагониста окситоцина атосибана (1 мкМ).

Оценка апоптоза

Апоптоз оценивали с использованием набора Annexin V-FITC ApoptosisDetection Kit (ab14085, Abcam, Великобритания) согласно инструкции производителя. Подсчет проводили с помощью флуоресцентного микроскопа ZOE™ (Bio-Rad, США) в пяти и более полях зрения. Данные выражали в процентах от общего числа клеток.

Иммуноокрашивание

Экспрессию H2AX оценивали методом двойного непрямого иммунофлуоресцентного окрашивания. Использовали первичные кроличьи поликлональные антитела к H2AX (1 : 300, ab11174, Abcam, RRID:AB_297813) с инкубацией в течение 18 ч при 4°C . Вторичные антитела, меченные AlexaFluor 555, (1 : 500, ab150078, Abcam, RRID : AB_2722519), инкубировали 2 ч при 37°C . Изображения анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа ZOE™ и программного обеспечения ImageJ (версия 1.47, США).

ПЦР в реальном времени (qRT-PCR)

Экспрессию мРНК генов, специфичных для ГАМК- и глутаматергических нейронов (*Gad67*, *Tbr1*, *Vglut1*), а также маркеров незрелых нейронов (*PSA-NCAM*, *Dcx*), оценивали методом qRT-PCR. Общую РНК выделяли с использованием набора для колоночной экстракции РНК (RU-250, Biolabmix) в соответствии с протоколом производителя. Количество выделенной РНК оценивали по оптической плотности при 260 нм с помощью спектрофотометра NanoVue (GE Healthcare Life Sciences, Великобритания). Значения соотношений оптических плотностей OD 260/280 и OD 260/230 находились в диапазонах 1.9–2.1 и 2.0–2.2 соответственно. Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLV RT (Eurogen, SK021, Россия) при 40 °C в течение 1 ч. Для проведения обратной транскрипции в реакции использовали 1 мкг РНК. Для подтверждения отсутствия репликации геномной ДНК в качестве отрицательного контроля использовали реакционную смесь без обратной транскриптазы. Количество кДНК-фрагментов генов *Gad67*, *Tbr1*, *Vglut1*, *PSA-NCAM*, *Dcx*, а также референсных генов *Gapdh* и *Actb* определяли с использованием коммерчески доступных наборов праймеров и флуоресцентно меченных ДНК-зондов (ООО “ДНК-синтез”, Россия). Полученную кДНК использовали для проведения ПЦР в реальном времени с набором qPCRmix-HS (Eurogen, № PK145L, Россия). Расчет относительной экспрессии генов проводили методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [36] с использованием программы Excel.

Статистический анализ данных

Обработка результатов и построение графиков проводились с использованием программного обеспечения GraphPadPrism 10 (GraphPad Software, США) и языка программирования R. Для проверки нормальности распределения и равенства дисперсий применялись тесты Шапиро–Уилка и Левене соответственно. Все полученные данные соответствовали предположениям о нормальном распределении и гомоскедастичности. Статистический анализ включал описательную статистику и двухфакторный дисперсионный анализ (Two-way ANOVA) с последующим *post hoc* тестом Сидака. Данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение. Статистически значимыми считались различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние окситоцина на апоптоз

Результаты анализа показали, что на количество апоптотических клеток влияли как СРПЖ ($F(1,18) = 172.5$, $p < 0.0001$), так и стимуляция окситоцином ($F(2,18) = 35.07$, $p < 0.0001$), причем взаимодействие факторов также оказывало значимое влияние ($F(2,18) = 9.712$, $p < 0.0014$). Действительно, в образцах с СРПЖ было значительно увеличено количество апоптотических клеток по сравнению с контролем (рис. 1). При этом введение окситоцина не вызывало статистически значимых изменений уровня апоптоза в контрольной культуре. Однако в образцах с СРПЖ окситоцин приводил к достоверному снижению апоптоза, хотя его уровень оставался значимо выше по сравнению с контролем ($p < 0.0001$, Сидак). Ингибирование рецепторов окситоцина атосибаном вызывало рост апоптоза в контроле и не влияло на апоптоз при СРПЖ.

Влияние окситоцина на повреждение ДНК

Анализ Two-way ANOVA показал значимое влияние стимуляции ($F(2,18) = 4.184$, $p < 0.032$), но не СРПЖ на уровень H2AX. Уровень экспрессии маркера двуцепочечных разрывов ДНК (H2AX) демонстрировал тенденцию к повышению при блокаде

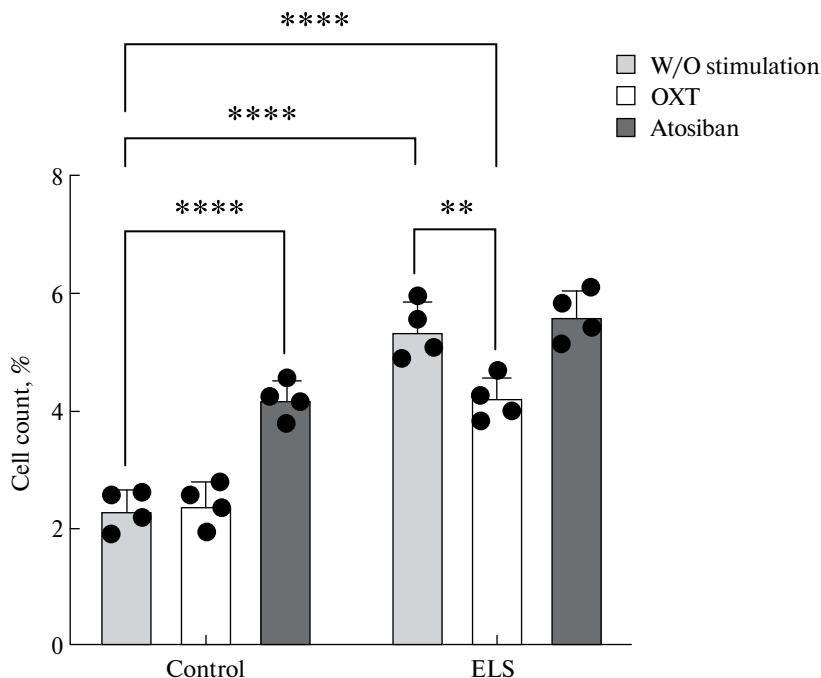


Рис. 1. Процент апоптотических клеток (cell count, %) в клеточных культурах, полученных от контрольных животных (w/o stimulation) и животных с моделью стресса раннего периода жизни (ELS). Дополнительно оценивалось влияние инкубации с окситоцином (OXT) и с антагонистом рецепторов окситоцина (atosiban). Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Статистически значимые различия между группами отмечены звездочками. Статистический анализ выполнен с использованием Two-way ANOVA с последующим *post hoc* тестом Сидака. ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$.

OXTR в контрольных культурах (рис. 2), что указывает на возможную роль окситоцина в реализации механизмов репарации поврежденной ДНК. Однако при попарном сравнении контрольной группы с группой, инкубированной с атосибаном, статистическая значимость не была достигнута ($p = 0.226$, Сидак).

Экспрессия генов, ассоциированных с нейрогенезом

С помощью Two-way ANOVA было обнаружено значимое влияние как СРПЖ, так и OXT/атосибан стимуляции на экспрессию всех рассматриваемых генов-маркеров нейрогенеза (*PSA-NCAM*: $F_{\text{СРПЖ}}(1,20) = 124.7$ ($p < 0.0001$), $F_{\text{стимуляция}}(2,20) = 15.95$ ($p < 0.0001$); *Dcx*: $F_{\text{СРПЖ}}(1,20) = 52.73$ ($p < 0.0001$), $F_{\text{стимуляция}}(2,20) = 4.42$ ($p = 0.026$); *Tbr1*: $F_{\text{СРПЖ}}(1,20) = 51.23$ ($p < 0.0001$), $F_{\text{стимуляция}}(2,20) = 84.23$ ($p < 0.0001$); *Gad67*: $F_{\text{СРПЖ}}(1,20) = 74.14$ ($p < 0.0001$), $F_{\text{стимуляция}}(2,20) = 41.46$ ($p < 0.0001$); *Vglut1*: $F_{\text{СРПЖ}}(1,20) = 8.05$ ($p = 0.01$), $F_{\text{стимуляция}}(2,20) = 4.26$ ($p = 0.029$)). Детальный *post hoc* анализ показал, что СРПЖ приводил к значительному снижению экспрессии генов *PSA-NCAM* и *Dcx* (рис. 3а, б), которые являются маркерами нейробластов, а также гена тормозных нейронов *Gad67* (рис. 3д). При этом уровень экспрессии маркеров глутаматергических нейронов (*Tbr1*, *Vglut1*) не изменялся (рис. 3с, е).

Экзогенный окситоцин повышал экспрессию *PSA-NCAM* и *Tbr1* в контрольных культурах (рис. 3а, с), что указывает на его стимулирующий эффект на пролиферацию и дифференцировку незрелых нейронов. Интересно, однако, что экспрессия *Gad67* при этом значимо снижалась (рис. 3д).

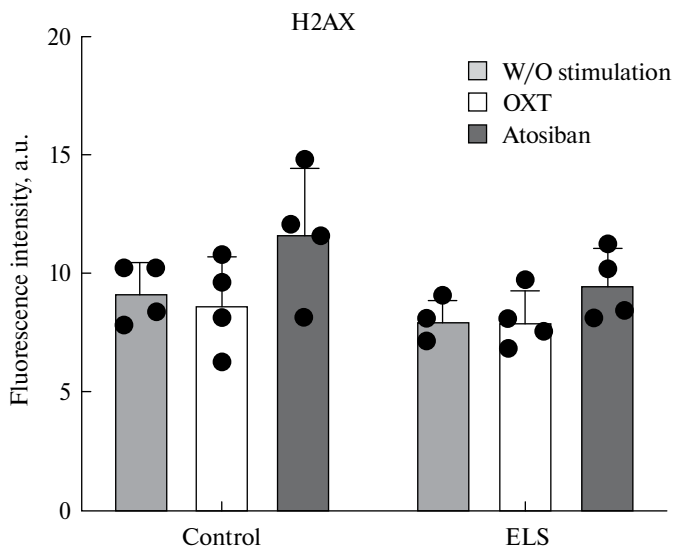


Рис. 2. Уровень H2AX (fluorescence intensity, a.u.) в клеточных культурах, полученных от контрольных животных (w/o stimulation) и животных с моделью стресса раннего периода жизни (ELS). Дополнительно оценивалось влияние инкубации с окситоцином (OXT) и с антагонистом рецепторов окситоцина (atosiban). Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Статистически значимые различия между группами отмечены звездочками. Статистический анализ выполнен с использованием Two-way ANOVA с последующим *post hoc* тестом Сидака.

В условиях СРПЖ ОХТ оказывал ограниченный эффект, снижая лишь экспрессию *Tbr1* (рис. 3с). Атосибан, в свою очередь, вызывал значимое снижение экспрессии *Tbr1* в обеих группах, что подчеркивает критическую роль ОХТ в поддержании нейрональной дифференцировки.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данное исследование показывает, что СРПЖ приводит к увеличению апоптоза и подавлению экспрессии ключевых маркеров нейрогенеза в культуре *in vitro*, тогда как окситоцин снижает клеточную гибель, но по-разному регулирует генную экспрессию в зависимости от наличия стресса. Блокада окситоциновых рецепторов атосибаном усиливает апоптоз даже в отсутствие стресса, что подчеркивает базовую роль окситоцинергической системы в поддержании нейрональной жизнеспособности. Результаты данного исследования подтверждают и дополняют современные представления о мультифункциональной роли окситоцина как ключевого нейроэндокринного медиатора, который не только регулирует классические репродуктивные функции, но и играет важную роль в поддержании нейронального гомеостаза, особенно в условиях стресс-индуцированной уязвимости [37].

Выявленное снижение уровня апоптоза под действием экзогенного окситоцина в культурах нейросфер от животных после СРПЖ демонстрирует его потенциал как нейропротектора. Это согласуется с данными о том, что ОХТ может опосредованно активировать антиапоптотические пути через сигнальные каскады PI3K/Akt и MAPK/ERK, что ранее было показано для гиппокампальных и корковых нейронов [38–41]. Более того, окситоцин способен снижать концентрацию провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и TNF, которые, в свою очередь, индуцируют апоптоз и повреждение ДНК в клетках, подвергшихся стрессу [42–44].

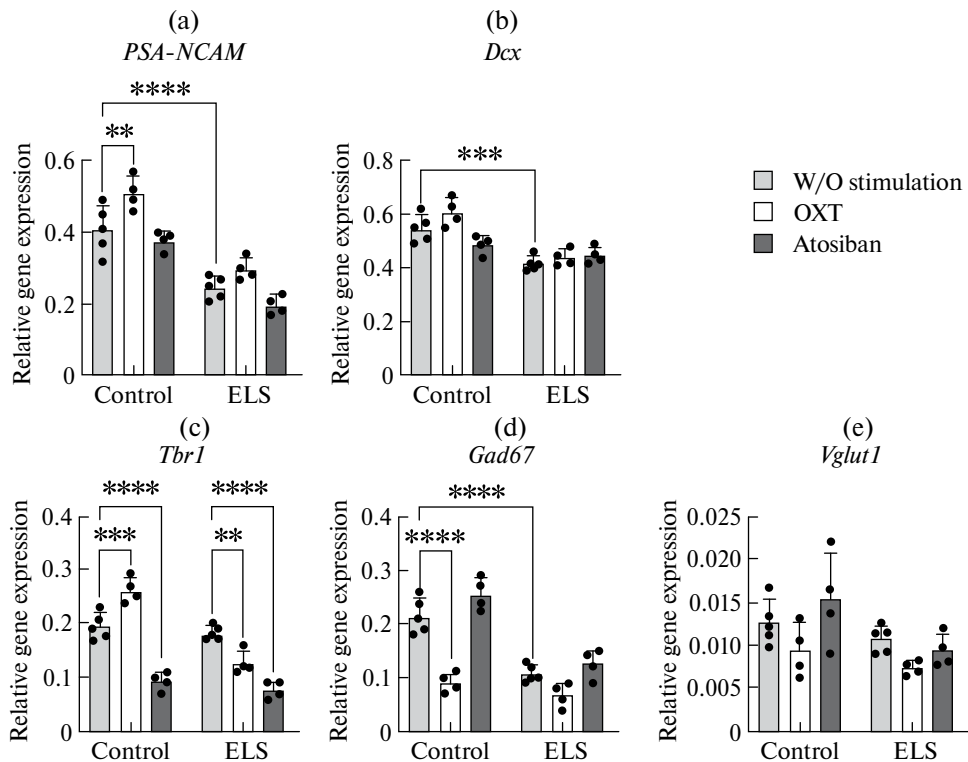


Рис. 3. Относительная экспрессия генов (Relative gene expression) (a) – *PSA-NCAM*, (b) – *Dcx*, (c) – *Tbr1*, (d) – *Gad67*, (e) – *Vglut1* в клеточных культурах, полученных от контрольных животных (w/o stimulation) и животных с моделью стресса раннего периода жизни (ELS). Дополнительно оценивалось влияние инкубации с окситоцином (OXT) и с антагонистом рецепторов окситоцина (atosiban). Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Статистически значимые различия между группами отмечены звездочками. Статистический анализ выполнен с использованием Two-way ANOVA с последующим *post hoc* тестом Сидака. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Интересно отметить, что, несмотря на значительное снижение апоптоза, OXT не приводил к полному восстановлению до контрольного уровня. Это может отражать то, что в условиях хронического СРПЖ формируется устойчивая перестройка рецепторного аппарата, снижение экспрессии или аффинности OXTR в ключевых структурах мозга [45]. Подобные явления резистентности к окситоцину уже описаны в клинических исследованиях пациентов с посттравматическим стрессовым расстройством, где отмечается парадоксальное повышение уровня циркулирующего окситоцина [46] при одновременной дисфункции рецепторов [47–49].

Наблюдаемый эффект антагониста OXTR, а именно усиление апоптоза и тенденция к аккумуляции двуцепочечных разрывов ДНК (H2AX) в контрольных культурах, подчеркивает, что базальная окситоцинергическая активность играет важную роль в поддержании геномной стабильности и жизнеспособности нейронов даже при отсутствии стресс-факторов [50]. Этот факт особенно актуален для областей мозга с высокой метаболической активностью [51] и интенсивной нейрогенезной активностью, таких как пириформная кора и прилежащие зоны субвентрикулярной области [52].

Особое внимание заслуживает влияние окситоцина на экспрессию ключевых маркеров нейрогенеза. В контрольных культурах OXT достоверно увеличивал экспрессию *PSA-NCAM* и *Tbr1*, что может указывать на стимулирующий эффект на процессы

созревания нейробластов и их дифференцировку в глутаматергические нейроны. Эти данные согласуются с ранее полученными результатами, где окситоцин повышал нейрогенез в гиппокампе взрослых грызунов и способствовал формированию новых функционально интегрированных нейронов [53–55]. В условиях СРПЖ этот эффект был частично нивелирован, что может отражать специфическую перестройку микроокружения нейрональных ниш под действием хронического стресса, включая нарушения взаимодействия с глиальными клетками и эндотелием [56–58].

Зафиксированный феномен снижения экспрессии *Gad67* при СРПЖ согласуется с большинством литературных данных, описывающих, что подавленная экспрессия *Gad65* или *Gad67* наблюдалась во многих областях мозга мышей, подверженных воздействию стресса [59, 60]. Подавленная активность ГАМК-ергических нейронов может впоследствии приводить к аномальному социальному поведению из-за нарушения передачи сигнала в гиппокампе [61]. Эффект окситоцина в условиях СРПЖ частично нивелируется, что может быть связано с нарушением чувствительности рецепторного аппарата, и требует дальнейшего изучения.

Интересное и противоречивое наблюдение было сделано в отношении экспрессии гена *Gad67* в контроле. Уменьшение его экспрессии в контрольных культурах нейрофер под воздействием экзогенного окситоцина может отражать регулирующее влияние окситоцина на баланс возбуждающей и тормозной передачи в развивающейся нейрональной сети. В ряде работ показано, что окситоцин может оказывать двоякое воздействие на ГАМК-ергическую активность в зависимости от стадии развития, уровня рецепторной экспрессии и локальной нейрохимической среды [62, 63]. В частности, продемонстрировано, что в до- и постнатальном периодах окситоцин модулирует переключение действия ГАМК с деполяризующего на гиперполяризующее, а также усиливает как фазовую, так и тоническую ГАМК-ергическую передачу [64]. Однако в условиях отсутствия стресс-индуцированной нейровоспалительной активации введение окситоцина могло вызвать избыточное ингибирование, что, в свою очередь, запускает компенсаторный механизм снижения экспрессии *Gad67*. Это согласуется с данными Navranek с соавт., согласно которым окситоцин оказывает модулирующее воздействие на ГАМК-ергические нейроны в дофаминергических зонах мозга, а его отсутствие или дисфункция на ранних этапах развития способствуют дезингибированию дофаминергической передачи и формированию поведенческих нарушений [65]. Следовательно, выявленное снижение *Gad67* под влиянием ОХТ в контрольных условиях может представлять собой физиологический гомеостатический отклик развивающейся нейросети на избыточную нейропептидную стимуляцию по типу отрицательной обратной связи и требует дальнейшего уточнения в контексте клеточной специфичности действия окситоцина и активации его рецепторов. Это подчеркивает необходимость дальнейшего изучения специфики действия окситоцина на различные популяции нейронов в развивающемся головном мозге.

Клинические и фундаментальные данные свидетельствуют, что одним из перспективных направлений применения окситоцина является профилактика или коррекция когнитивных и эмоциональных нарушений, ассоциированных со стрессом раннего периода жизни [12, 66]. Наши результаты подтверждают целесообразность дальнейших исследований, направленных на уточнение оптимальных режимов введения окситоцина, возможность преодоления резистентности рецепторного аппарата (например, путем комбинированной терапии с модуляторами ОХТ) и детального анализа взаимодействия окситоцина с другими гормональными системами, включая кортизол и вазопрессин. С практической точки зрения результаты открывают возможности разработки фармакологических стратегий, направленных на использование окситоцина или его аналогов для снижения последствий СРПЖ и других хронических стрессоров, что особенно актуально в контексте растущего интереса к превентивной нейроэндокринологии и геронтологии.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Е. Д. Х., А. Б. С., Ю. К. К.), сбор данных (Е. Д. Х., Ю. А. П., О. Л. Л., Н. А. М.), анализ и обработка данных (А. Н. Л., А. В. Б.), написание и редактирование рукописи (А. Н. Л., Ю. К. К., А. Б. С.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 20-015-00472.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры с животными проводились в соответствии с принципами гуманного обращения, изложенными в Директиве Европейского сообщества (2010/63/ЕС) и были одобрены биоэтической комиссией по работе с животными при Локальном этическом комитете Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 3 от 12 мая 2014 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Higashida H, Lopatina O, Yoshihara T, Pichugina YA, Soumarokov AA, Munesue T, Minabe Y, Kikuchi M, Ono Y, Korshunova N, Salmina AB (2010) Oxytocin signal and social behaviour: comparison among adult and infant oxytocin, oxytocin receptor and CD38 gene knockout mice. *J Neuroendocrinol* 22:373–379.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.01976.x>
2. Lee H-J, Macbeth AH, Pagani JH, Scott Young W (2009) Oxytocin: The great facilitator of life. *Prog Neurobiol* 88:127–151.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2009.04.001>
3. Cid-Jofré V, Moreno M, Reyes-Parada M, Renard GM (2021) Role of Oxytocin and Vasopressin in Neuropsychiatric Disorders: Therapeutic Potential of Agonists and Antagonists. *Int J Mol Sci* 22:12077.
<https://doi.org/10.3390/ijms222112077>
4. Veening JG, de Jong TR, Waldinger MD, Korte SM, Olivier B (2015) The role of oxytocin in male and female reproductive behavior. *Eur J Pharmacol* 753:209–228.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.045>
5. Walter MH, Abele H, Plappert CF (2021) The Role of Oxytocin and the Effect of Stress During Childbirth: Neurobiological Basics and Implications for Mother and Child. *Front Endocrinol* 12.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.742236>
6. Carter CS, Kenkel WM, MacLean EL, Wilson SR, Perkeybile AM, Yee JR, Ferris CF, Nazarloo HP, Porges SW, Davis JM, Connolly JJ, Kingsbury MA (2020) Is Oxytocin “Nature’s Medicine”? *Pharmacol Rev* 72: 829–861.
<https://doi.org/10.1124/pr.120.019398>
7. Campbell A (2010) Oxytocin and human social behavior. *Personal Soc Psychol Rev Off J Soc Personal Soc Psychol Inc* 14: 281–295.
<https://doi.org/10.1177/1088868310363594>

8. *Takayanagi Y, Onaka T* (2022) Roles of Oxytocin in Stress Responses, Allostasis and Resilience. *Int J Mol Sci* 23: 150.
<https://doi.org/10.3390/ijms23010150>
9. *Froemke RC, Young LJ* (2021) Oxytocin, Neural Plasticity, and Social Behavior. *Annu Rev Neurosci* 44: 359–381.
<https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-102320-102847>
10. *Ellenbogen MA* (2018) Oxytocin and Facial Emotion Recognition. In: Hurlemann R, Grinevich V (eds) *Behavioral Pharmacology of Neuropeptides: Oxytocin*. Springer International Publishing, Cham. 349–374.
11. *Di Simplicio M, Harmer CJ* (2016) Oxytocin and emotion processing. *J Psychopharmacol Oxf Engl* 30: 1156–1159.
<https://doi.org/10.1177/0269881116641872>
12. *Jin Y, Song D, Yan Y, Quan Z, Qing H* (2023) The Role of Oxytocin in Early-Life-Stress-Related Neuropsychiatric Disorders. *Int J Mol Sci* 24: 10430.
<https://doi.org/10.3390/ijms241310430>
13. *Ellis BJ, Horn AJ, Carter CS, van IJzendoorn MH, Bakermans-Kranenburg MJ* (2021) Developmental programming of oxytocin through variation in early-life stress: Four meta-analyses and a theoretical reinterpretation. *Clin Psychol Rev* 86: 101985.
<https://doi.org/10.1016/j.cpr.2021.101985>
14. *Agorastos A, Pervanidou P, Chrousos GP, Baker DG* (2019) Developmental Trajectories of Early Life Stress and Trauma: A Narrative Review on Neurobiological Aspects Beyond Stress System Dysregulation. *Front Psychiatry* 10: 118.
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00118>
15. *Makris G, Eleftheriades A, Pervanidou P* (2023) Early Life Stress, Hormones, and Neurodevelopmental Disorders. *Horm Res Paediatr* 96: 17–24.
<https://doi.org/10.1159/000523942>
16. *Huang Z, Jordan JD, Zhang Q* (2023) Early life adversity as a risk factor for cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Transl Neurodegener* 12: 25.
<https://doi.org/10.1186/s40035-023-00355-z>
17. *Short AK, Baram TZ* (2019) Early-life adversity and neurological disease: age-old questions and novel answers. *Nat Rev Neurol* 15: 657–669.
<https://doi.org/10.1038/s41582-019-0246-5>
18. *Kuhn HG, Skau S, Nyberg J* (2024) A lifetime perspective on risk factors for cognitive decline with a special focus on early events. *Cereb Circ – Cogn Behav* 6: 100217.
<https://doi.org/10.1016/j.cccb.2024.100217>
19. *Hellwig AF, Wroblewski KL, Krol KM, Connelly JJ, Allen JP* (2024) Epigenetic regulation of the oxytocin system as an indicator of adaptation to over-controlling parenting and psychosocial functioning in adulthood. *Psychoneuroendocrinology* 168: 107123.
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2024.107123>
20. *Uvnäs-Moberg K, Gross MM, Calleja-Agius J, Turner JD* (2024) The Yin and Yang of the oxytocin and stress systems: opposites, yet interdependent and intertwined determinants of lifelong health trajectories. *Front Endocrinol* 15: 1272270.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1272270>
21. *Neumann ID* (2002) Chapter 12 Involvement of the brain oxytocin system in stress coping: interactions with the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. In: *Progress in Brain Research*. Elsevier. 147–162.
22. *Wang S-C, Lin C-C, Chen C-C, Tzeng N-S, Liu Y-P* (2018) Effects of Oxytocin on Fear Memory and Neuroinflammation in a Rodent Model of Posttraumatic Stress Disorder. *Int J Mol Sci* 19: 3848.
<https://doi.org/10.3390/ijms19123848>

23. Shi C, Wu X, Gao Y, Ma D, Yang J, Ji M (2024) Oxytocin attenuates neuroinflammation-induced anxiety through restoration of excitation and inhibition balance in the anterior cingulate cortex in mice. *J Affect Disord* 362: 341–355.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2024.05.144>
24. Bakos J, Srancikova A, Havranek T, Bacova Z (2018) Molecular Mechanisms of Oxytocin Signaling at the Synaptic Connection. *Neural Plast* 2018: 4864107.
<https://doi.org/10.1155/2018/4864107>
25. Cattaneo MG, Lucci G, Vicentini LM (2009) Oxytocin stimulates in vitro angiogenesis via a Pyk-2/Src-dependent mechanism. *Exp Cell Res* 315: 3210–3219.
<https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.06.022>
26. Salmina AB, Gorina YV, Komleva YK, Panina YA, Malinovskaya NA, Lopatina OL (2021) Early Life Stress and Metabolic Plasticity of Brain Cells: Impact on Neurogenesis and Angiogenesis. *Biomedicines* 9: 1092.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines9091092>
27. Jiang J, Yang M, Tian M, Chen Z, Xiao L, Gong Y (2023) Intertwined associations between oxytocin, immune system and major depressive disorder. *Biomed Pharmacother* 163: 114852.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114852>
28. Yoshida M, Takayanagi Y, Inoue K, Kimura T, Young LJ, Onaka T, Nishimori K (2009) Evidence that oxytocin exerts anxiolytic effects via oxytocin receptor expressed in serotonergic neurons in mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 29: 2259–2271.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5593-08.2009>
29. Mairesse J, Gatta E, Reynaert M-L, Marrocco J, Morley-Fletcher S, Soichot M, Deruyter L, Camp GV, Bouwalerh H, Fagioli F, Pittaluga A, Allorge D, Nicoletti F, Maccari S (2015) Activation of presynaptic oxytocin receptors enhances glutamate release in the ventral hippocampus of prenatally restraint stressed rats. *Psychoneuroendocrinology* 62: 36–46.
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.07.005>
30. Onaka T, Takayanagi Y (2021) The oxytocin system and early-life experience-dependent plastic changes. *J Neuroendocrinol* 33: e13049.
<https://doi.org/10.1111/jne.13049>
31. Triana-Del Rio R, Ranade S, Guardado J, LeDoux J, Klann E, Shrestha P (2022) The modulation of emotional and social behaviors by oxytocin signaling in limbic network. *Front Mol Neurosci* 15.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.1002846>
32. Abellán-Álvaro M, Teruel-Sanchis A, Madeira MF, Lanuza E, Santos M, Agustín-Pavón C (2024) Doublecortin-immunoreactive neurons in the piriform cortex are sensitive to the long lasting effects of early life stress. *Front Neurosci* 18.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1446912>
33. McKay EC, Counts SE (2020) Oxytocin Receptor Signaling in Vascular Function and Stroke. *Front Neurosci* 14.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2020.574499>
34. Fleck L, Buss C, Bauer M, Stein M, Mekle R, Kock L, Klawitter H, Godara M, Ramler J, Entringer S, Endres M, Heim C (2025) Early-Life Adversity Predicts Markers of Aging-Related Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Cognitive Impairment in Women. *Ann Neurol* 97: 642–656.
<https://doi.org/10.1002/ana.27161>
35. Teissier A, Le Magueresse C, Olusakin J, Andrade da Costa BLS, De Stasi AM, Bacci A, Imamura Kawasawa Y, Vaidya VA, Gaspar P (2020) Early-life stress impairs postnatal oligodendrogenesis and adult emotional behaviour through activity-dependent mechanisms. *Mol Psychiatry* 25: 1159–1174.
<https://doi.org/10.1038/s41380-019-0493-2>
36. Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods* 25: 402–408.
<https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

37. Jurek B, Neumann ID (2018) The Oxytocin Receptor: From Intracellular Signaling to Behavior. *Physiol Rev* 98: 1805–1908.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2017>
38. Bazhanova ED, Teply DL, Khuzhakhmetova LK, Anisimov VN (2020) AKT, ERK and NFkB Signaling Pathways in Neurons of Hypothalamic Supraoptic and Paraventricular Nuclei in Aging-Transgenic Mice with HER2/neu Overexpression. *Zurn Evol Biokhem Physiol* 56(6): 447–455.
39. Noiseux N, Borie M, Desnoyers A, Menaouar A, Stevens LM, Mansour S, Danalache BA, Roy D-C, Jankowski M, Gutkowska J (2012) Preconditioning of Stem Cells by Oxytocin to Improve Their Therapeutic Potential. *Endocrinology* 153: 5361–5372.
<https://doi.org/10.1210/en.2012-1402>
40. Wu G, Ou Y, Feng Z, Xiong Z, Li K, Che M, Qi S, Zhou M (2024) Oxytocin attenuates hypothalamic injury-induced cognitive dysfunction by inhibiting hippocampal ERK signaling and A β deposition. *Transl Psychiatry* 14: 208.
<https://doi.org/10.1038/s41398-024-02930-y>
41. Zhou M-F, Feng Z-P, Ou Y-C, Peng J-J, Li K, Gong H-D, Qiu B-H, Liu Y-W, Wang Y-J, Qi S-T (2019) Endoplasmic reticulum stress induces apoptosis of arginine vasopressin neurons in central diabetes insipidus via PI3K/Akt pathway. *CNS Neurosci Ther* 25: 562–574.
<https://doi.org/10.1111/cns.13089>
42. Garrido-Urbani S, Deblon N, Poher AL, Caillon A, Ropraz P, Rohner-Jeanrenaud F, Altirriba J (2018) Inhibitory role of oxytocin on TNF α expression assessed *in vitro* and *in vivo*. *Diabetes Metab* 44: 292–295.
<https://doi.org/10.1016/j.diabet.2017.10.004>
43. Inoue T, Yamakage H, Tanaka M, Kusakabe T, Shimatsu A, Satoh-Asahara N (2019) Oxytocin Suppresses Inflammatory Responses Induced by Lipopolysaccharide through Inhibition of the eIF-2 α –ATF4 Pathway in Mouse Microglia. *Cells* 8: 527.
<https://doi.org/10.3390/cells8060527>
44. Mehdi SF, Pusapati S, Khenhrani RR, Farooqi MS, Sarwar S, Alnasarat A, Mathur N, Metz CN, LeRoith D, Tracey KJ, Yang H, Brownstein MJ, Roth J (2022) Oxytocin and Related Peptide Hormones: Candidate Anti-Inflammatory Therapy in Early Stages of Sepsis. *Front Immunol* 13: 864007.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.864007>
45. Nawijn L, Krzyzewska IM, van Zuiden M, Henneman P, Koch SBJ, Mul AN, Frijling JL, Veltman DJ, Mannens MM a. M, Olff M (2019) Oxytocin receptor gene methylation in male and female PTSD patients and trauma-exposed controls. *Eur Neuropsychopharmacol* J 9: 147–155.
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2018.10.006>
46. Carmassi C, Marazziti D, Mucci F, Della Vecchia A, Barberi FM, Baroni S, Giannaccini G, Palego L, Massimetti G, Dell'Osso L (2021) Decreased Plasma Oxytocin Levels in Patients With PTSD. *Front Psychol* 12.
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.612338>
47. Apazoglou K, Adouan W, Aubry J-M, Dayer A, Aybek S (2018) Increased methylation of the oxytocin receptor gene in motor functional neurological disorder: a preliminary study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 89: 552–554.
<https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-316469>
48. Lee H, King AP, Li Y, Seng JS (2022) Oxytocin receptor gene, post-traumatic stress disorder and dissociation in a community sample of European American women. *BJPsych Open* 8: e104.
<https://doi.org/10.1192/bjo.2022.74>
49. Reiner I, Frieling H, Beutel M, Michal M (2016) Gene–Environment Interaction of the Oxytocin Receptor Gene Polymorphism (rs53576) and Unresolved Attachment Status Predict Depersonalization Symptoms: An Exploratory Study. *Psychol Stud* 61: 295–300.
<https://doi.org/10.1007/s12646-016-0378-2>
50. Pekarek BT, Hunt PJ, Arenkiel BR (2020) Oxytocin and Sensory Network Plasticity. *Front Neurosci* 14.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00030>

51. *Rajamannar P, Blechman J, Raz O, Levkowitz G* (2025) Neuropeptide oxytocin facilitates its own brain-to-periphery uptake. *Cell Rep* 44.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.115491>
52. *Buemann B* (2023) Does activation of oxytocinergic reward circuits postpone the decline of the aging brain? *Front Psychol* 14.
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2023.1250745>
53. *Leuner B, Caponiti JM, Gould E* (2012) Oxytocin stimulates adult neurogenesis even under conditions of stress and elevated glucocorticoids. *Hippocampus* 22: 861–868.
<https://doi.org/10.1002/hipo.20947>
54. *Lin Y-T, Chen C-C, Huang C-C, Nishimori K, Hsu K-S* (2017) Oxytocin stimulates hippocampal neurogenesis via oxytocin receptor expressed in CA3 pyramidal neurons. *Nat Commun* 8: 537.
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-00675-5>
55. *Pekarek BT, Hunt PJ, Arenkiel BR* (2020) Oxytocin and Sensory Network Plasticity. *Front Neurosci* 14.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00030>
56. *Jones KL, Zhou M, Jhaveri DJ* (2022) Dissecting the role of adult hippocampal neurogenesis towards resilience versus susceptibility to stress-related mood disorders. *NPJ Sci Learn* 7: 16.
<https://doi.org/10.1038/s41539-022-00133-y>
57. *Schoenfeld TJ, Gould E* (2012) Stress, stress hormones, and adult neurogenesis. *Exp Neurol* 233: 12–21.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.01.008>
58. *Segi-Nishida E, Suzuki K* (2025) Regulation of adult-born and mature neurons in stress response and antidepressant action in the dentate gyrus of the hippocampus. *Neurosci Res* 211: 10–15.
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2022.08.010>
59. *Janetsian-Fritz SS, Timme NM, Timm MM, McCane AM, Baucum II AJ, O'Donnell BF, Lapish CC* (2018) Maternal deprivation induces alterations in cognitive and cortical function in adulthood. *Transl Psychiatry* 8: 71.
<https://doi.org/10.1038/s41398-018-0119-5>
60. *Ohta K-I, Suzuki S, Warita K, Sumitani K, Tenkumo C, Ozawa T, Ujihara H, Kusaka T, Miki T* (2020) The effects of early life stress on the excitatory/inhibitory balance of the medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 379: 112306.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112306>
61. *Horiai M, Otsuka A, Hidema S, Hiraoka Y, Hayashi R, Miyazaki S, Furuse T, Mizukami H, Teruyama R, Tamura M, Bito H, Maejima Y, Shimomura K, Nishimori K* (2020) Targeting oxytocin receptor (Oxtr)-expressing neurons in the lateral septum to restore social novelty in autism spectrum disorder mouse models. *Sci Rep* 10: 22173.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-79109-0>
62. *Mitre M, Marlin BJ, Schiavo JK, Morina E, Norden SE, Hackett TA, Aoki CJ, Chao MV, Froemke RC* (2016) A Distributed Network for Social Cognition Enriched for Oxytocin Receptors. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 36: 2517–2535.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2409-15.2016>
63. *Tyzio R, Cossart R, Khalilov I, Minlebaev M, Hübner CA, Represa A, Ben-Ari Y, Khazipov R* (2006) Maternal oxytocin triggers a transient inhibitory switch in GABA signaling in the fetal brain during delivery. *Science* 314: 1788–1792.
<https://doi.org/10.1126/science.1133212>
64. *Maniezzi C, Talpo F, Spaiardi P, Toselli M, Biella G* (2019) Oxytocin Increases Phasic and Tonic GABAergic Transmission in CA1 Region of Mouse Hippocampus. *Front Cell Neurosci* 13.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00178>
65. *Havranek T, Bacova Z, Bakos J* (2024) Oxytocin, GABA, and dopamine interplay in autism. *Endocr Regul* 58: 105–114.
<https://doi.org/10.2478/enr-2024-0012>
66. *Zhang S, Zhang Y-D, Shi D-D, Wang Z* (2023) Therapeutic uses of oxytocin in stress-related neuropsychiatric disorders. *Cell Biosci* 13: 216.
<https://doi.org/10.1186/s13578-023-01173-6>

Role of the Oxytocinergic System in Correcting Neurogenic Impairments Induced by Early Life Stress: an *in vitro* Study

E. D. Khilazheva^a, A. N. Lukyanchuk^{a,b}, Yu. A. Panina^a, O. L. Lopatina^a,
N. A. Malinovskaya^a, A. V. Blagova^b, A. B. Salmina^{a,b},
and Yu. K. Komleva^{b,*}

^aV.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

^bRussian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia

*e-mail: yuliakomleva@mail.ru

Early life stress (ELS) induces long-term changes in neuroplasticity which are associated with dysfunction of the oxytocinergic system. However, the molecular mechanisms of such impairments as well as the possibilities of their correction remain poorly understood. In this study, we investigated the effects of ELS, exogenous oxytocin (OXT), and an oxytocin receptor antagonist (atosiban) on cellular processes associated with homeostasis and neurogenesis in neurospheres *in vitro*. Neurospheres were isolated from the subventricular zone and pyriform cortex of CD1 mice (age P60) in the control and ELS groups, followed by exposure to oxytocin (OXT, 1 μ M) or atosiban (1 μ M). The level of apoptosis, the DNA damage (H2AX) and the expression of neurogenesis associated genes *PSA-NCAM*, *Dcx*, *Tbr1*, *Gad67* and *Vglut1* (qRT-PCR) were then quantitatively assessed. The data obtained showed that ELS increased the number of apoptotic cells and decreased the expression of *PSA-NCAM*, *Dxc* and *Gad67* genes, while OXT improved apoptotic indices, but had no effect on the expression of the studied genes, with the exception of a decrease in *Tbr1*. In control group, OXT increased the expression of *PSA-NCAM* and *Tbr1*, while simultaneously decreasing the level of *Gad67*, which may reflect its regulatory effect on the balance of excitatory and inhibitory transmission in the developing neuronal network. Atosiban stimulation, however, resulted in increased apoptosis in control samples, highlighting the role of oxytocinergic activity in maintaining neuronal viability even in the absence of stress. These data indicate that ELS causes long-term impairments of neurogenesis and cellular homeostasis, and the modulating effect of OXT depends on the initial state of the cells. These results highlight the potential role of the oxytocinergic system in correcting the consequences of early life stress.

Keywords: early-life stress, oxytocin, neurogenesis, immature neurons, apoptosis, neuroplasticity, neurosphere