

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ  
ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 616.89-008.454:616-092.9

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2025-10-4-5-21>

# ОКСИТОЦИН-ОПОСРЕДОВАННАЯ МОДУЛЯЦИЯ ПАМЯТИ У МЫШЕЙ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА И ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ АЦЕТАТОМ ЦИНКА

ЦЫПУНОВ В. Е.<sup>1,2</sup> ✉, ПОЖИЛЕНКОВА Е. А.<sup>3</sup>, ГОРИНА Я. В.<sup>1,2</sup>, ЛОПАТИНА О. Л.<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Красноярский государственный медицинский университет ул. Партизана Железняка, д. 1, г. Красноярск, 660022, Россия<sup>2</sup>Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, д. 79, г. Красноярск, 660041, Россия<sup>3</sup>Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана, ул. 2-я Бауманская, д. 5, стр. 1, г. Москва, 105005, Россия

## Основные положения

Хроническая интоксикация ацетатом цинка и его сочетание с  $\beta$ -амилоидом служат ключевыми факторами увеличения концентрации окситоцина в головном мозге и биологических жидкостях мышей в контексте настоящего исследования. Воздействие только лишь  $\beta$ -амилоида не оказывало значительного влияния на уровень ОХТ. Такое повышение уровня окситоцина, в свою очередь, может оказывать положительное влияние на восстановление когнитивных функций.

## Резюме

**Цель.** Выявить изменения реализации когнитивных функций и уровня эндогенного окситоцина в ряде регионов головного мозга и биологических жидкостях у мышей с экспериментальной моделью болезни Альцгеймера, хронической интоксикации ацетатом цинка и их совместным воздействием. **Материалы и методы.** Мыши линии CD-1 ( $n = 32$ ). Моделирование хронической интоксикации ацетатом цинка –  $Zn(CH_3CO_2)_2$  (концентрация  $Zn^{2+}$  5 мг/л) в качестве питья в течение 3 мес., контрольная группа – чистая вода. Моделирование болезни Альцгеймера – интрагиппокампальная инъекция  $\beta$ -амилоида, контрольная группа – введение фосфатно-солевого буфера. Оценка ассоциативной памяти – тестирование на условно-рефлекторное замирание. Уровень окситоцина в регионах головного мозга и биологических жидкостях – метод иммуноферментного анализа. **Результаты.** Хроническая интоксикация ацетатом цинка и её сочетание влияние с  $\beta$ -амилоидом вызвали повышение уровня окситоцина в гиппокампе, энторинальной коре, гипоталамо-гипофизарной области и в спинномозговой жидкости. Воздействие  $\beta$ -амилоида не оказало влияния на уровень окситоцина, либо вызвало его снижение (миндалевид-

ное тело, плазма крови). Формирование условного рефлекса и контекстуальной памяти ухудшилось у мышей всех опытных групп. Ассоциативная память о страхе у мышей с моделью болезни Альцгеймера, сочетанной с хронической интоксикацией ацетатом цинка, не отличалась от контроля. Воздействие только  $\beta$ -амилоида способствовало ухудшению ассоциативной памяти о страхе. Уровень окситоцина в миндалевидном теле согласуется с изменением способности мышей к формированию памяти о страхе. **Заключение.** Хроническая интоксикация ацетатом цинка и его сочетание с  $\beta$ -амилоидом повышают уровень окситоцина практически во всех исследуемых регионах мозга и в спинномозговой жидкости, вероятно, как компенсаторный ответ на нейротоксичность  $Zn^{2+}$ . Острое воздействие  $\beta$ -амилоида не вызывало существенных изменений. Таким образом, хроническое воздействие ацетата цинка – основной фактор повышения уровня окситоцина в мозге и биожидкостях. Повышение уровня окситоцина может способствовать восстановлению когнитивных функций.

**Ключевые слова:** хроническая интоксикация, цинк, болезнь Альцгеймера, память, окситоцин

## Корреспонденцию адресовать:

Цыпунов Виталий Евгеньевич, 660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, E-mail: [vitaliy.tsypunov.99@mail.ru](mailto:vitaliy.tsypunov.99@mail.ru)

© Цыпунов В. Е. и др.

**Соответствие принципам этики.** Работа проведена в рамках выполнения государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Высокопроизводительные методы идентификации нейропептидов для решения задач персонализированной диагностики нейродегенерации и токсического поражения головного мозга» (№121033100055-7). При выполнении экспериментов на животных в рамках выполнения государственного задания дополнительное прохождение биоэтической комиссии не требуется.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Высокопроизводительные методы идентификации нейропептидов для решения задач персонализированной диагностики нейродегенерации и токсического поражения головного мозга» (№121033100055-7).

## Для цитирования:

Цыпунов В. Е., Пожиленкова Е. А., Горина Я. В., Лопатина О. Л. Окситоцин-опосредованная модуляция памяти у мышей с экспериментальной моделью болезни Альцгеймера и хронической интоксикации ацетатом цинка. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2025;10(4):5–21. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2025-10-4-5-21>

Поступила:

23.07.2025

Поступила после доработки:

31.08.2025

Принята в печать:

28.11.2025

Дата печати:

24.12.2025

## Сокращения

БА – болезнь Альцгеймера

А $\beta$  –  $\beta$ -амилоид

ОХТ – окситоцин

ИФА – иммуноферментный анализ

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ORIGINAL RESEARCH  
PATHOLOGICAL PHYSIOLOGYOXYTOCIN-MEDIATED MEMORY MODULATION IN MICE  
WITH AN EXPERIMENTAL MODEL OF ALZHEIMER'S  
DISEASE AND CHRONIC ZINC ACETATE INTOXICATIONVITALII E. TSYPUNOV<sup>1,2</sup>✉, ELENA A. POZHILENKOVA<sup>3</sup>, YANA V. GORINA<sup>1,2</sup>, OLGA L. LOPATINA<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Professor V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University,  
Partizan Zheleznyak Street, 1, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation<sup>2</sup> Siberian Federal University, Svobodny Avenue, 79, Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation<sup>3</sup> Bauman Moscow State Technical University, 2-nd Baumanskaya, 5, Moscow, 105005, Russia

## HIGHLIGHTS

Chronic zinc acetate intoxication and its combination with  $\beta$ -amyloid act as key factors in increasing oxytocin concentration in the brain and biological fluids of mice in the context of the present study. Exposure to  $\beta$ -amyloid alone did not significantly affect oxytocin levels. This elevation in oxytocin levels, in turn, may have a positive effect on the restoration of cognitive functions.

## Abstract

**Aim.** To identify changes in cognitive function performance and endogenous oxytocin levels in various brain regions and biological fluids in mice with an experimental model of Alzheimer's disease, chronic zinc acetate intoxication, and their combined effects. **Materials and methods.** CD-1 mice ( $n = 32$ ). Chronic zinc acetate intoxication was modeled by administering  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$  ( $\text{Zn}^{2+}$  concentration: 5 mg/L) as drinking water for 3 months; the control group received pure water. Alzheimer's disease was modeled via intrahippocampal  $\beta$ -amyloid injection; the control group received phosphate-buffered saline. Associative memory was assessed using conditioned freezing testing. Oxytocin levels in brain regions and biological fluids were measured via ELISA. **Results.** Chronic zinc acetate intoxication and its combined effect with  $\beta$ -amyloid led to increased oxytocin levels in the hippocampus, entorhinal cortex, hypothalamic-pituitary region, and cerebrospinal fluid.  $\beta$ -Amyloid ex-

posure either had no effect on oxytocin levels or caused a decrease (amygdala, blood plasma). Conditioned reflex formation and contextual memory were impaired in all experimental groups. Fear-associated memory in mice with the Alzheimer's model combined with chronic zinc acetate intoxication did not differ from controls. Exposure to  $\beta$ -amyloid alone worsened fear-associated memory. Oxytocin levels in the amygdala correlated with changes in the mice's ability to form fear memory. **Conclusion.** Chronic zinc acetate intoxication and its combination with  $\beta$ -amyloid increase oxytocin levels in nearly all examined brain regions and cerebrospinal fluid, likely as a compensatory response to  $\text{Zn}^{2+}$  neurotoxicity. Acute  $\beta$ -amyloid exposure did not cause significant changes. Thus, chronic zinc acetate exposure is the primary factor elevating oxytocin levels in the brain and biofluids. Increased oxytocin levels may contribute to the restoration of cognitive functions.

**Keywords:** chronic intoxication, zinc, Alzheimer's disease, memory, oxytocin

## Corresponding author:

Vitalii E. Tsypunov, Partizan Zheleznyak St., 1, Krasnoyarsk, 660022, Russia, E-mail: vitaliy.tsypunov.99@mail.ru

© Vitalii E. Tsypunov, et al.

**Ethics statements.** The study was conducted as part of a state assignment from the Ministry of Health of the Russian Federation: «High-Throughput Methods for Identifying Neuropeptides for Personalized Diagnostics of Neurodegeneration and Toxic Brain Injury» (№ 121033100055-7). When conducting animal experiments under this state assignment, additional approval from the bioethics committee was not required.

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest.

**Financing.** The study was conducted as part of a state assignment from the Ministry of Health of the Russian Federation: «High-Throughput Methods for Identifying Neuropeptides for Personalized Diagnostics of Neurodegeneration and Toxic Brain Injury» (№ 121033100055-7).

**For citation:** Vitalii E. Tsypunov, Elena A. Pozhilenkova, Yana V. Gorina, Olga L. Lopatina. Oxytocin-mediated memory modulation in mice with an experimental model of Alzheimer's disease and chronic zinc acetate intoxication. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2025;10(4):5–21. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2025-10-4-5-21>

Received:  
23.07.2024

Received in revised form:  
31.08.2025

Accepted:  
28.11.2025

Published:  
24.12.2025

## Введение

В настоящее время болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенной причиной деменции (до 80 % всех случаев), поражающей около 50 млн людей во всем мире [1]. Развитие болезни характеризуется стремительным снижением когнитивных функций и ухудшением качества жизни пациентов с этим диагнозом [2]. В основе патогенеза БА лежит аномальное накопление  $\beta$ -амилоида (А $\beta$ ) и тау-белка, которые образуют амилоидные бляшки и тау-клубки в тканях мозга, что, в конечном итоге, приводит к развитию нейродегенерации [3]. Нейровоспаление также является патогенным фактором в развитии нейродегенеративных процессов при БА, вследствие активации микроглии и высвобождения провоспалительных цитокинов [4].

Помимо нейродегенерации альцгеймеровского типа, ученые активно исследуют нейротоксические эффекты тяжёлых металлов. Цинк ( $Zn^{2+}$ ) является одним из токсичных элементов, который выбрасывается в окружающую среду (почва, вода, воздух) в результате антропогенной деятельности, пагубно влияя на здоровье человека [5]. Одно из многих нейротоксических свойств цинка заключается в его способности опосредованно вызывать снижение уровня никотинамидадениндинуклеотида (NAD $^{+}$ ) нейронов, что приводит к ингибированию продукции АТФ и энергетической недостаточности [6]. Эксперименты на моделях клеток коры головного мозга мышей показали, что поступление ионов  $Zn^{2+}$  в митохондрии вызывает чрезмерную генерацию активных форм кислорода [7]. Таким образом, избыточное поступление цинка приводит к дисфункции и гибели нейронов, вызывая снижение когнитивных функций [8].

Помимо собственных нейротоксических эффектов, цинк способен оказывать влияние на развитие нейродегенераций. Известно, что А $\beta$  способен связывать цинк в нейронах, что приводит к агрегации А $\beta$  и образованию нерастворимых осадков, характерных для БА [9]. Также в литературе упоминается, что цинк может влиять на патогенез БА, модулируя фосфорилирование тау-белка [10]. Помимо этого, цинк способен связываться напрямую с тау-белком и изменять его конформацию [11], вызывая его фибрилляцию и агрегацию [12]. Таким образом, нарушение регуляции цинка в нейронах или его избыточное поступление могут способствовать запуску патофизиологических процессов, сопряженных с развитием БА.

Существуют свидетельства о том, что экзогенный окситоцин (ОХТ), введенный интраназально крысам с экспериментальной моделью БА, может проявлять положительные эффекты в отношении когнитивных функций при прогрессирующей нейродегенерации [13]. Экспериментальные исследования показали, что ОХТ способен проявлять противовоспалительную активность, способствуя ослаблению активации микроглии [14] и снижению экспрессии провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL-6 и IL-1 $\beta$  [15]. Также известно, что введение ОХТ мышам с моделью БА способствовало изменению морфологии амилоидных бляшек в гиппокампе, тем самым уменьшая повреждающее действие А $\beta$  в мозге [16]. Помимо этого, у крыс ОХТ проявляет анксиолитическую активность, действуя в центральной миндалине и паравентрикулярном ядре гипоталамуса [17]. Таким образом, представленные данные говорят о противовоспалительной и нейропротекторной активности экзогенного ОХТ в головном мозге мышей с экспериментальной моделью нейродегенерации.

## Цель исследования

Выявить изменения уровня эндогенного ОХТ в ряде регионов головного мозга (гиппокамп, миндалевидного тела, гипоталамо-гипофизарной области, энторинальной коры) и биологических жидкостях (плазма крови и спинномозговая жидкость) у мышей с экспериментальной моделью БА, хронической интоксикации ацетатом цинка ( $Zn(CH_3CO_2)_2$ ) и совместным воздействием этих факторов. Также важным является установить зависимость между уровнем ОХТ и реализацией когнитивных функций, в частности эмоциональной памяти, у мышей в контексте созданных экспериментальных моделей.

## Материалы и методы

В работе использовали белых лабораторных мышей линии ICR (CD-1), самцов, массой 20–30 г, в возрасте 1 месяц к началу эксперимента. В течение всего периода содержания животные находились в стандартных индивидуально-вентилируемых клетках из полисульфона размером 403x165x174мм (Sealsafe NEXT (1145T) Techniplast, Италия) при температуре 21–22°C со свободным доступом к корму и воде, с режимом освещения день/ночь 12/12 ч. Эксперименты на животных были проведены в рамках выполнения государственного зада-

ния Министерства здравоохранения Российской Федерации «Высокопроизводительные методы идентификации нейропептидов для решения задач персонализированной диагностики нейродегенерации и токсического поражения головного мозга» (№121033100055-7) согласно национальному стандарту Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики», принципам гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. При выполнении экспериментов на животных в рамках выполнения государственного задания дополнительное прохождение биоэтической комиссии не требуется. Работа была выполнена с использованием ресурсной базы ЦКП «Молекулярные и клеточные технологии» ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.

**Дизайн эксперимента и группы животных**  
Лабораторные животные (n = 32) были слу-

чайным образом разделены на две группы: WT (контроль, n = 16) и Zn (n = 16). Мыши в группе Zn подвергались хроническому воздействию  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$  (концентрация  $\text{Zn}^{2+}$  5 мг/л) через питьевую воду в течение 3 месяцев, в то время как мышей в группе WT поили чистой водой. Далее каждую группу животных случайным образом делили на две, таким образом, сформировав следующие экспериментальные группы:

Группа WT+PBS (n = 8) – мыши из группы WT с интрагиппокампальной инъекцией фосфатно-солевого буфера (PBS) (контрольная группа);

Группа WT+Aβ (n = 8) – мыши из группы WT с интрагиппокампальной инъекцией Aβ (опытная группа);

Группа Zn+PBS (n = 8) – мыши из группы Zn с интрагиппокампальной инъекцией PBS (опытная группа);

Группа Zn+Aβ (n = 8) – мыши из группы Zn с интрагиппокампальной инъекцией Aβ (опытная группа).

Схема формирования выборок и дальнейших экспериментальных процедур показана на рисунке 1.

**Рисунок 1.**

Дизайн эксперимента.

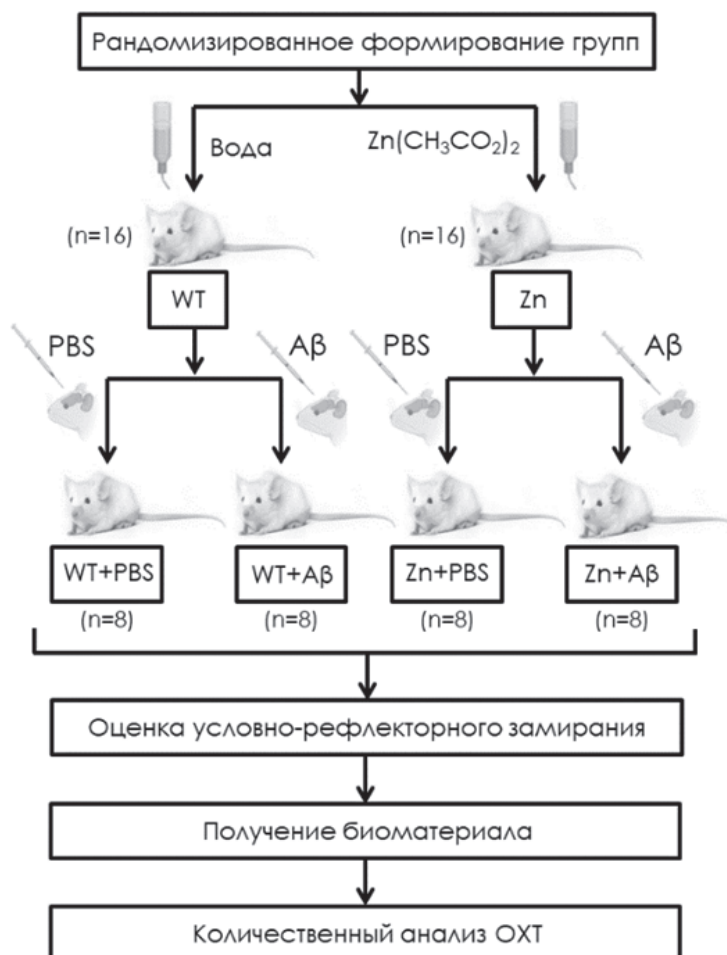
**Примечание:**

WT – контрольные мыши, Zn – мыши с хронической интоксикацией ацетатом цинка, PBS – интрагиппокампальная инъекция фосфатно-солевого буфера, Aβ – интрагиппокампальная инъекция β-амилоида, ОХТ – окситоцин.

**Figure 1.**

Experimental design.

Note: WT – control mice, Zn – mice with chronic zinc acetate intoxication, PBS – intrahippocampal injection of phosphate-buffered saline, Aβ – intrahippocampal injection of β-amyloid, ОХТ – oxytocin.



### **Моделирование хронической интоксикации**

Экспериментальное моделирование хронической интоксикации цинком у мышей проводили путём хронического введения ацетата цинка ( $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$ ) (Sigma-Aldrich, США). Животные в течение 3 месяцев имели свободный доступ к воде с добавлением  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$ . Концентрация  $\text{Zn}^{2+}$  в растворе составляла 5 мг/л, что соответствует максимально допустимому уровню  $\text{Zn}^{2+}$  в питьевой воде (СанПиН 2.1.4.1074-01). Количество потребляемого мышами  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$  не контролировали, животные потребляли раствор по естественной потребности.

### **Моделирование нейродегенерации альцгеймеровского типа**

Для моделирования нейродегенерации альцгеймеровского типа у мышей из групп WT+A $\beta$  и Zn+A $\beta$  использовали метод интрагиппокампальной инъекции A $\beta$  [18].

A $\beta$  предварительно растворяли в ДМСО (Sigma-Aldrich, США) до концентрации 4 мМ, затем брали аликвоту и разбавляли в PBS (Sigma-Aldrich, США) до концентрации 50  $\mu\text{M}$  с последующей агрегацией в термостате при 37 °C в течение 7 дней. Перед проведением операции животное взвешивали на весах для точного расчета дозировки анестетика и вводили ксилазин в дозе 10 мг/кг. Анестезию проводили с использованием хлоралгидрата (Sigma-Aldrich, США), который вводили интраперитонеально в дозе 100 мг/кг веса животного. При этом продолжительность анестезии составляла от 40 мин до 1 ч. Для защиты глаз использовали протектор роговицы «Дефислэз». В месте иссечения использовали инфильтрационную анестезию 0,5% раствором лидокаина. После достижения необходимого уровня анестезии животное помещали в стереотаксическую рамку с адаптером для мышей (Neurostar, Германия). Кожу, покрывающую череп, оттягивали для просверливания отверстий. С каждой стороны гиппокампа в СА1 зону микрошприцем (Hamilton, Швейцария) вводили по 1 мкл A $\beta$  по стереотаксическим координатам  $\text{ML} \pm 1,3 \text{ мм}$ , в  $\text{AP} -2,0 \text{ мм}$ ,  $\text{DV} -1,9 \text{ мм}$  (относительно бregмы). A $\beta$  вводили в течение 5 мин (0,2 мкл/мин), оставляя иглу в месте введения еще в течение 5 мин после инъекции. Послеоперационный период для животных составлял 5 сут, затем их ссаживали вместе по группам. Животным

из групп WT+PBS и Zn+PBS вводили 1 мкл PBS, содержащий ДМСО, для исключения влияния стресса от оперативного вмешательства (ложная операция). После всех процедур проводили наложение швов и обработку антибактериальной мазью «Левомеколь». Для предотвращения обезвоживания подкожно вводили физиологический раствор в дозе 10 мл/кг массы животного.

### **Поведенческое тестирование**

Для оценки когнитивных функций экспериментальных животных (ассоциативное обучение и формирование эмоциональной памяти) использовали тестирование на условно-рефлекторное замирание («Fear conditioning test») [19]. Тестирование проводили с использованием установки для оценки условно-рефлекторного замирания Ugo Basile 46000 (Италия), которая представляет собой квадратную акриловую камеру (размер 33×25×28 см), помещенную в звуконепроницаемый бокс. Пол выполнен в виде электропроводящей сетки. Регистрация времени замирания автоматизирована и основана на анализе видеоданных. Настройка параметров электрошокового, светового и звукового воздействия осуществляется с использованием программного обеспечения. Тестирование проводили в течение 3 дней:

*Сессия 1* (день 1 – обучение). Оценивали способность животных к формированию условного рефлекса. В качестве условного стимула подавали звуковой сигнал (белый шум, 55 дБ) на 0, 180, 240, 300 и 360 сек. от начала тестирования. В качестве безусловного стимула подавали электрический ток (0,5 мА, продолжительность – 2 сек.) в течение последних 2 сек. белого шума. Мышь убирала из камеры через 60 сек. после последней подачи электрического тока.

*Сессия 2* (день 2 – условия контекста). Выявляли способность животных к извлечению памяти об эмоционально окрашенном событии в условиях контекста (контекстуальная память). Мышь помещали в камеру на 300 сек в условия полного отсутствия условного и безусловного стимулов.

*Сессия 3* (день 3 – оценка запоминания). Определяли формирование ассоциативной памяти у животных о приобретенном страхе в 1 день тестирования с обеспечением нового контекста, отличного от 1 и 2 дня тестирования. В камере устанавливали черно-белые стенки и сплошной черный пол поверх проводящей

сетки. Продолжительность сессии составляла 360 сек. Осуществляли подачу только условного стимула (белый шум) на 180 секунде от начала теста.

Интервал между сессиями составлял 24 ч. Оценивали время замирания животного (защитная реакция проявляется как отсутствие движения (кроме дыхания) в течение 0,75 сек. и более) регистрировали с использованием цифровой видеосистемы и программного обеспечения для отслеживания видеосигнала ANY-maze (Stoelting Co., США). Продолжительность замирания определяли как показатель памяти о страхе.

#### **Методика забора регионов головного мозга и биологических жидкостей**

Анестезию проводили путем внутрибрюшинного введения хлоралгидрата в дозе 100 мг/кг массы животного. Оценивали степень достижения обезболивания по отсутствию реакции отдергивания при защемлении кончика хвоста пинцетом. Для осуществления оперативных манипуляций использовали стерильные хирургические инструменты (ООО «НПФ «Медтехника», Россия).

**Забор спинномозговой жидкости.** После проведения анестезии животное помещали в стереотаксическую рамку таким образом, чтобы голова, закрепленная с помощью специального адаптера, образовывала угол с телом примерно 80°. Операционную область дезинфицировали йодом и накрывали хирургической простыней. Используя хирургические ножницы с прямым кончиком, делали надрез (примерно 20 мм) на коже в центре шеи. Подкожную ткань и мышечные слои разделяли тупым рассечением с помощью пинцета и тонкоконечных ватных тампонов, чтобы обнажить атлanto-затылочную мембрану большой цистерны. Для выделения спинномозговой жидкости в центре атлanto-затылочной мембраны делали небольшое отверстие с помощью игла-бабочки таким образом, чтобы не повредить мозговую ткань и кровеносные сосуды. Спинномозговую жидкость забирали с использованием механического дозатора (Thermo Fisher Scientific Inc., США) и помещали в криопробирки с последующей заморозкой при -80 °C в морозильной камере (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

**Забор крови.** Забор крови проводили с помощью прокола малой подкожной вены. Для этого захватывали кожу вокруг задней лапки, пред-

варительно фиксируя мышцу в трубке. Шерсть на боковой поверхности задней ноги сбривали электротриммером до появления четко выраженной подкожной вены. Проколов вену иглой, собирали кровь в пробирки, содержащие антикоагулянт ЭДТА. Далее образцы крови в пробирках центрифугировали со скоростью 3000 об/мин в течение 15 мин для отделения плазмы. Плазму аккуратно отбирали пипеткой в криопробирки и замораживали при -80°C в морозильной камере.

**Забор регионов головного мозга.** Извлечение головного мозга мышцей осуществляли путем декапитации, предварительно проводя глубокую анестезию внутрибрюшинным введением хлоралгидрата в дозе 100 мг/кг массы животного. В соответствии с атласом анатомии головного мозга мышцей [20] производили извлечение интересующих областей головного мозга – гиппокампа, миндалевидного тела, гипоталамо-гипофизарной области, энторинальной коры с помощью скальпеля на льду. Далее помещали их в криопробирки с последующей заморозкой при -80°C в морозильной камере.

#### **Количественный анализ ОХТ**

Для количественного определения ОХТ в регионах головного мозга, спинномозговой жидкости и плазме экспериментальных животных использовали метод иммуноферментного анализа (ИФА). Для этого каждый выделенный регион головного мозга подвергали гомогенизации в 1 мл фосфатно-солевого буфера РВ с помощью стеклянного гомогенизатора. Полученные гомогенаты центрифугировали при 10000 об/мин. в течение 5 мин. Для проведения дальнейших процедур использовали супернатанты, которые собирали пипеткой после центрифугирования гомогенатов. Количественный анализ ОХТ проводили согласно инструкции производителя набора реагентов ИФА (ELISA Kit for Oxytocin (OT), Cloud-Clone Corp., США). Чувствительность набора составляла 5,27 пг/мл. Для измерения оптической плотности исследуемых образцов использовали мультимодальный ридер CLARIOstar Plus (BMG LABTECH, Германия), длина волны – 450 нм. Для пересчета результатов ИФА также измеряли концентрацию белка в каждом образце с помощью определяющего реагента Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad Laboratories, Inc., США) и бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта. Значения концентрации белка получали в мкг/

мл. Полученные методом ИФА значения концентрации ОХТ (пг/мл) пересчитывали с учетом концентрации белка (мкг/мл) и, таким образом, результат оценки концентрации ОХТ представляли в пг/мкг белка.

### Статистический анализ

Статистический анализ полученных экспериментальных данных проводили с использованием программного пакета GraphPad Prism7 (GraphPad Software, La Jolla, CA, США). Для сравнения трех и более выборок при изучении уровня ОХТ использовали непараметрический тест Краскала-Уоллиса, для попарного сравнения выборок использовали U-критерий Манна-Уитни. При изучении условно-рефлекторного замирания мышей использовали непараметрический тест Краскала-Уоллиса с апостериорным анализом Данна. Данные представлены в виде  $M \pm \sigma$ , где  $M$  – выборочное среднее,  $\sigma$  – стандартное квадратичное отклонение. Результаты считали значимыми при  $p < 0,05$ , где  $p$  – достигнутый уровень значимости.

## Результаты

### Тестирование животных на условно-рефлекторное замирание

Нами было проведено нейроповеденческое тестирование на условно-рефлекторное замирание у животных всех экспериментальных групп для выявления изменений процессов ассоциативного обучения и формирования эмоциональной памяти при воздействии двух факторов по отдельности – хронического введения  $Zn(CH_3CO_2)_2$  и инъекции  $A\beta$ , а также их сочетанном влиянии.

Анализ данных первого дня тестирования показал статистически значимые различия при одновременном сравнении четырех исследуемых групп ( $p < 0,0001$ , тест Краскала-Уоллиса) (**рисунок 2**). При последующем попарном сравнении групп, когда оценивалась способность мышей к формированию условного рефлекса, было выявлено статистически значимое снижение общего времени замирания относительно контроля: WT+PBS ( $141,6 \pm 25,6$  с,  $n = 8$ ) vs. WT+A $\beta$  ( $67,2 \pm 17,6$  с,  $n = 8$ ) ( $p < 0,001$ , тест Данна); WT+PBS ( $141,6 \pm 25,6$  с,  $n = 8$ ) vs. Zn+PBS ( $106,7 \pm 29,3$  с,  $n = 8$ ) ( $p = 0,0055$ , тест Данна); WT+PBS ( $141,6 \pm 25,6$  с,  $n = 8$ ) vs. Zn+A $\beta$  ( $89,0 \pm 35,2$  с,  $n = 8$ ) ( $p = 0,0026$ , тест Данна). Статистически значимых различий ( $p = 0,6807$ , тест Данна) общего времени

замирания в первый день тестирования между группами Zn+PBS ( $106,7 \pm 29,3$  с,  $n = 8$ ) и Zn+A $\beta$  ( $89,0 \pm 35,2$  с,  $n = 8$ ) не было обнаружено. Таким образом, как хроническая интоксикация  $Zn(CH_3CO_2)_2$ , так и острое токсическое действие A $\beta$  способствуют выраженному подавлению формирования условного рефлекса у мышей. Стоит отметить, что совместное воздействие этих факторов также в значительной степени нарушило формирование условно-рефлекторного страха.

По результатам второго дня тестирования, когда оценивалась способность мышей к извлечению контекстной памяти о страхе, выявлены статистически значимые различия между всеми четырьмя группами ( $p < 0,0001$ , тест Краскала-Уоллиса) (**рисунок 2**). Более того, при попарном сравнении экспериментальных групп относительно контроля WT+PBS ( $122,6 \pm 35,3$  с,  $n = 8$ ) было выявлено статистически значимое снижение общего времени замирания животных: WT+A $\beta$  ( $39,9 \pm 14,1$  с,  $n = 8$ ,  $p < 0,001$ , тест Данна), Zn+PBS ( $88,0 \pm 34,8$  с,  $n = 8$ ,  $p = 0,0205$ , тест Данна) и Zn+A $\beta$  ( $34,6 \pm 9,3$  с,  $n = 8$ ,  $p = 0,001$ , тест Данна). Важно, что статистически значимое снижение контекстуальной памяти наблюдалось и у животных из группы Zn+A $\beta$  ( $34,6 \pm 9,3$  с,  $n = 8$ ) ( $p = 0,0002$ , тест Данна) относительно группы Zn+PBS ( $88,0 \pm 34,8$  с,  $n = 8$ ). Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что хроническое воздействие  $Zn(CH_3CO_2)_2$  равно как и острое токсическое действие A $\beta$ , существенно нарушает не только процесс ассоциативного обучения, но и снижает способность к извлечению контекстуальной памяти у мышей. В совокупности это указывает на проявление явных деструктивных изменений в формировании эмоциональной памяти у животных всех опытных групп. Примечательно, что совокупное влияние двух факторов – хронической интоксикации  $Zn(CH_3CO_2)_2$  и острого токсического действия A $\beta$  – индуцирует развитие патологического паттерна формирования контекстуальной памяти относительно животных, которые подвергались только хроническому воздействию  $Zn(CH_3CO_2)_2$ .

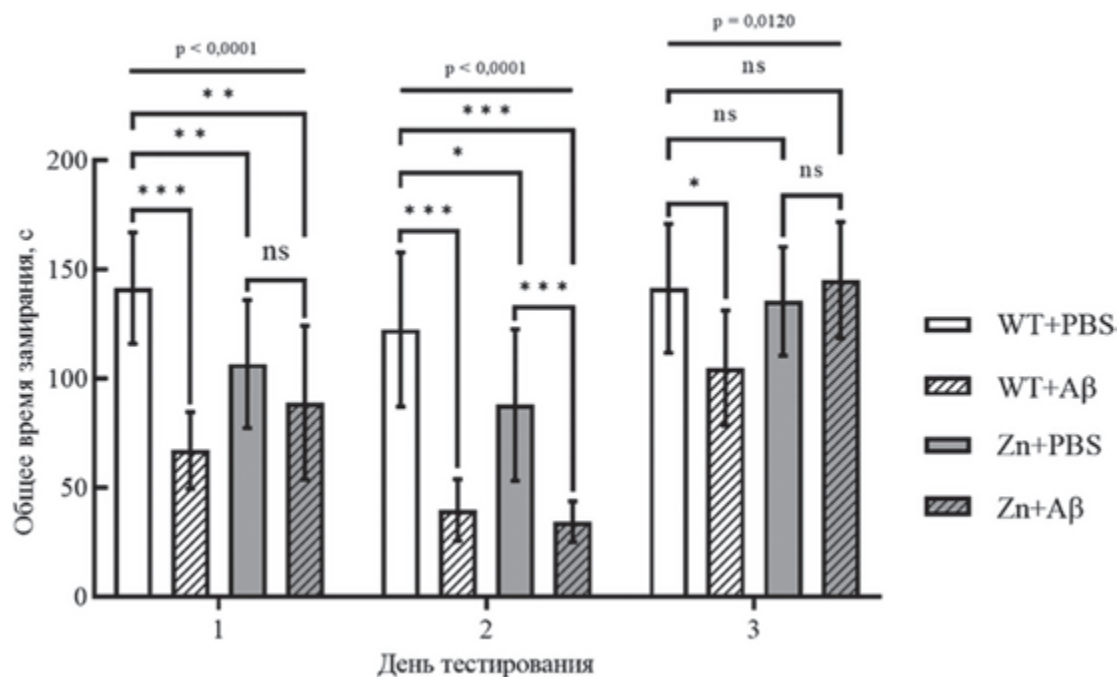
При анализе данных третьего дня тестирования, когда оценивалась ассоциативная память мышей о приобретенном в первый день страхе (с исключением контекста), выявлены статистически значимые различия между всеми четырьмя группами ( $p = 0,0120$ , тест Краскала-Уоллиса) (**рисунок 2**). После-

дующий тест Данна продемонстрировал снижение общего времени замирания животных группы WT+A $\beta$  ( $104,9 \pm 26,3$  с,  $n = 8$ ,  $p = 0,0396$ ) относительно контрольной группы WT+PBS ( $141,4 \pm 29,4$  с,  $n = 8$ ). Важно подчеркнуть, что хроническая интоксикация  $Zn(CH_3CO_2)_2$  равно как и его совместное действие с A $\beta$ , не вызвали статистически значи-

мых изменений общего времени замирания у экспериментальных животных. В совокупности полученные результаты демонстрируют, что острое токсическое действие A $\beta$  запускает развитие выраженных нарушений в формировании и реализации памяти об эмоционально окрашенных событиях у животных к третьему дню тестирования.

**Рисунок 2.**  
Результаты поведенческого тестирования на условно-рефлекторное замирание.

**Figure 2.**  
Results of behavioral testing for conditioned freezing.



**Примечание:** WT – контрольные мыши, Zn – мыши с хронической интоксикацией ацетатом цинка, PBS – инъекция фосфатно-солевого буфера (ложная операция), A $\beta$  – инъекция  $\beta$ -амилоида, ns – статистически незначимые различия. WT+PBS ( $n = 8$ ), WT+A $\beta$  ( $n = 8$ ), Zn+PBS ( $n = 8$ ), Zn+A $\beta$  ( $n = 8$ ). \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

**Note:** WT – control mice, Zn – mice with chronic zinc acetate intoxication, PBS – phosphate-buffered saline injection (sham operation), A $\beta$  –  $\beta$ -amyloid injection, ns – statistically insignificant differences. WT+PBS ( $n = 8$ ), WT+A $\beta$  ( $n = 8$ ), Zn+PBS ( $n = 8$ ), Zn+A $\beta$  ( $n = 8$ ). \* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$ ; \*\*\* –  $p < 0.001$ .

Количественный анализ ОХТ в головном мозге и биологических жидкостях мышей

Методом ИФА были определены концентрации ОХТ в определенных регионах головного мозга и биологических жидкостях мышей (рисунки 3-5).

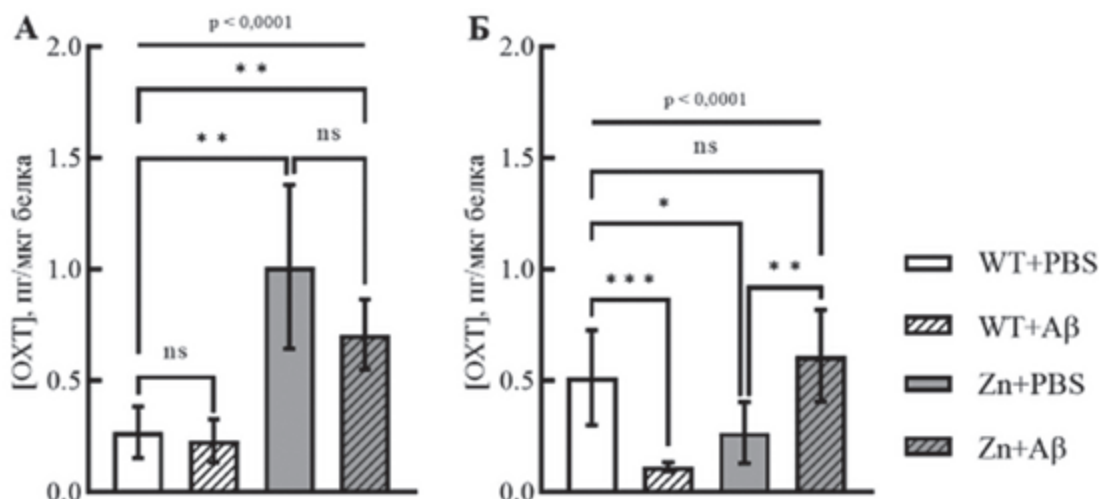
#### Уровень ОХТ в гиппокампе

Анализ уровня ОХТ в гиппокампе животных всех экспериментальных групп показал статистически значимые отличия ( $p < 0,0001$ , тест Краскала-Уоллиса) (рисунок 3А). При попарном сравнении (критерий Манна-Уитни) было отмечено повышение уровня ОХТ в группах Zn+PBS ( $1,012 \pm 0,367$  пг/мкг белка,  $n = 8$ ,  $p = 0,0016$ ) и Zn+A $\beta$  ( $0,708 \pm 0,158$  пг/мкг белка,  $n = 8$ ,  $p = 0,0002$ ) относительно группы WT+PBS ( $0,269 \pm 0,115$  пг/мкг белка,  $n = 8$ ). В то же время между группами WT+A $\beta$  ( $0,231 \pm 0,097$  пг/

мкг белка,  $n = 8$ ) и WT+PBS ( $0,269 \pm 0,115$  пг/мкг белка,  $n = 8$ ) статистически значимых изменений уровня ОХТ в гиппокампе не было обнаружено ( $p = 0,6943$ , критерий Манна-Уитни).

#### Уровень ОХТ в миндалевидном теле

При одномоментном сравнении всех четырех групп мышей были выявлены статистически значимые различия уровня ОХТ в миндалевидном теле ( $p < 0,0001$ , тест Краскала-Уоллиса) (рисунок 3Б). При попарном сравнении (критерий Манна-Уитни) установлено снижение уровня ОХТ у мышей в группах WT+A $\beta$  ( $0,114 \pm 0,020$  пг/мкг белка,  $n = 8$ ,  $p = 0,0006$ ) и Zn+PBS ( $0,268 \pm 0,136$  пг/мкг белка,  $n = 8$ ,  $p = 0,0350$ ) относительно группы WT+PBS ( $0,515 \pm 0,213$  пг/мкг белка,  $n = 8$ ). Однако совместное влияние двух факторов не вызвало значимых изменений уровня ОХТ: Zn+A $\beta$  ( $0,613 \pm 0,207$



**Рисунок 3.** Результаты измерений концентрации окситоцина в (А) гиппокампе и (Б) миндалевидном теле мышей.

**Figure 3.** Results of oxytocin concentration measurements in (А) the hippocampus and (Б) the amygdala of mice.

**Примечание:** ОХТ – окситоцин, WT – контрольные мыши, Zn – мыши с хронической интоксикацией ацетатом цинка, PBS – инъекция фосфатно-солевого буфера (ложная операция), Aβ – инъекция β-амилоида, ns – статистически незначимые различия. WT+PBS (n=8), WT+Aβ (n=8), Zn+PBS (n=8), Zn+Aβ (n=8). \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01; \*\*\* – p < 0,001.

**Note:** OXT – oxytocin, WT – control mice, Zn – mice with chronic zinc acetate intoxication, PBS – phosphate-buffered saline injection (sham operation), Aβ – β-amyloid injection, ns – statistically insignificant differences. WT+PBS (n=8), WT+Aβ (n=8), Zn+PBS (n=8), Zn+Aβ (n=8). \* – p < 0.05; \*\* – p < 0.01; \*\*\* – p < 0.001.

пг/мкг белка, n = 8, p = 0,5276) относительно группы WT+PBS (0,515 ± 0,213 пг/мкг белка, n = 8). Примечательно, что острое токсическое действие Aβ на фоне хронической интоксикации Zn(CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub> привело к совершенно противоположному эффекту – статистически значимому повышению уровня ОХТ: группа Zn+Aβ (0,613 ± 0,207 пг/мкг белка, n = 8, p = 0,0023) относительно Zn+PBS (0,268 ± 0,136 пг/мкг белка, n = 8).

#### Уровень ОХТ в энторинальной коре

Анализ уровня ОХТ в энторинальной коре головного мозга при одновременном сравнении четырех исследуемых групп показал статистически достоверные различия (p < 0,0001, тест Краскала-Уоллиса) (**рисунок 4А**). Попарное сравнение по критерию Манна-Уитни позволило выявить заметный эффект на уровень ОХТ как хронической интоксикации Zn(CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, так и его сочетанного влияния с Aβ. Так, нами было установлено значимое повышение уровня ОХТ у животных опытных групп относительно контроля: WT+PBS (0,245 ± 0,075 пг/мкг белка, n = 8) vs. Zn+PBS (0,391 ± 0,146 пг/мкг белка, n = 8, p = 0,0293); WT+PBS (0,245 ± 0,075 пг/мкг белка, n = 8) vs. Zn+Aβ (1,280 ± 0,322 пг/мкг белка, n = 8, p = 0,0016). Аналогичная картина наблюдалась и в группе Zn+Aβ (1,280 ± 0,322 пг/мкг белка, n = 8, p = 0,0043) относительно группы Zn+PBS (0,391 ± 0,146 пг/мкг белка, n = 8). Вместе с тем, исключительно острое токсическое действие Aβ не вызвало столь существенных изменений в уровне ОХТ:

группа WT+Aβ (0,184 ± 0,033 пг/мкг белка, n = 8, p = 0,0813) относительно группы WT+PBS (0,245 ± 0,075 пг/мкг белка, n = 8).

#### Уровень ОХТ в гипоталамо-гипофизарной области головного мозга

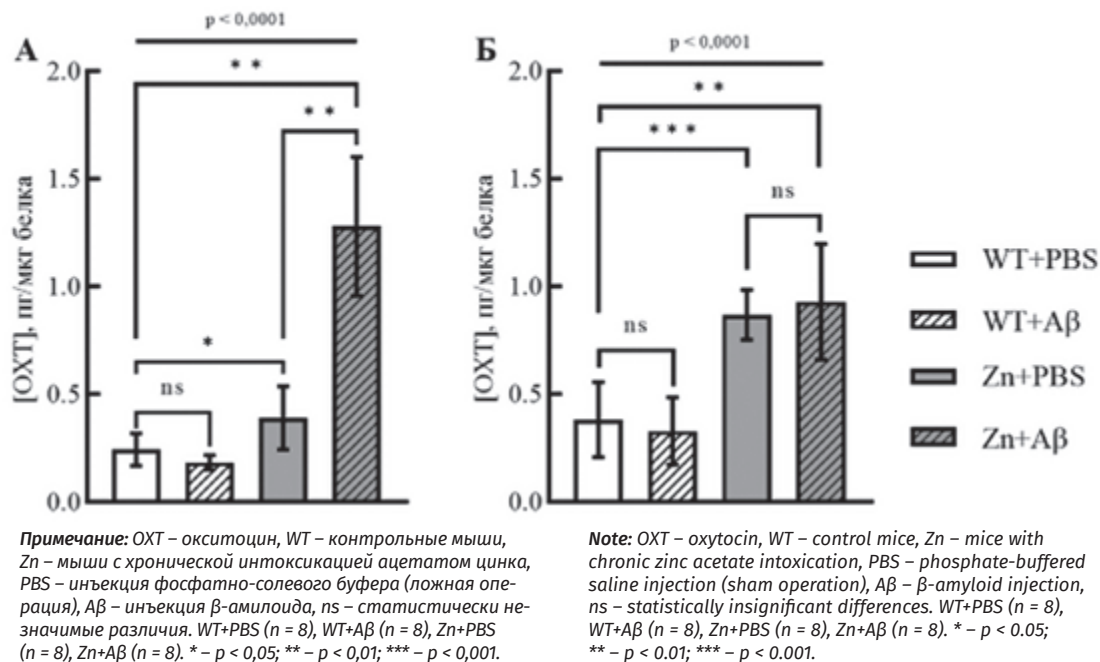
Одномоментное сравнение всех групп животных показало статистически значимые различия в изменении уровня ОХТ (p < 0,0001, тест Краскала-Уоллиса) (**рисунок 4Б**). При этом важно подчеркнуть, что при попарном сравнении (критерий Манна-Уитни) относительно контроля хроническая интоксикация Zn(CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub> и его сочетанное воздействие с Aβ оказали существенное воздействие на уровень ОХТ, значимо повысив его: WT+PBS (0,382 ± 0,174 пг/мкг белка, n = 8) vs. Zn+PBS (0,869 ± 0,116 пг/мкг белка, n = 8, p = 0,007); WT+PBS (0,382 ± 0,174 пг/мкг белка, n = 8) vs. Zn+Aβ (0,929 ± 0,249 пг/мкг белка, n = 8, p = 0,0040), в то время как острое токсическое действие Aβ не вызвало столь достоверных изменений концентрации ОХТ в гипоталамо-гипофизарной области головного мозга мышей относительно группы WT+PBS.

#### Уровень ОХТ в спинномозговой жидкости

Сравнивая уровень ОХТ в спинномозговой жидкости мышей всех экспериментальных групп, нами установлены статистически значимые отличия (p < 0,0001, тест Краскала-Уоллиса) (**рисунок 5А**). Сочетанное влияние острого токсического действия Aβ с хронической интоксикацией Zn(CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub> привело к значимому повышению уровня ОХТ в спинномозговой жидкости мышей относительно группы WT+PBS (0,245 ± 0,075 пг/мкг белка, n = 8) vs. Zn+Aβ (1,280 ± 0,322 пг/мкг белка, n = 8, p = 0,0016).

**Рисунок 4.** Результаты измерений концентрации окситоцина в (А) энторинальной коре и (Б) гипоталамо-гипофизарной области головного мозга мышей.

**Figure 4.** Results of oxytocin concentration measurements in (A) the entorhinal cortex and (B) the hypothalamic-pituitary region of the mouse brain.



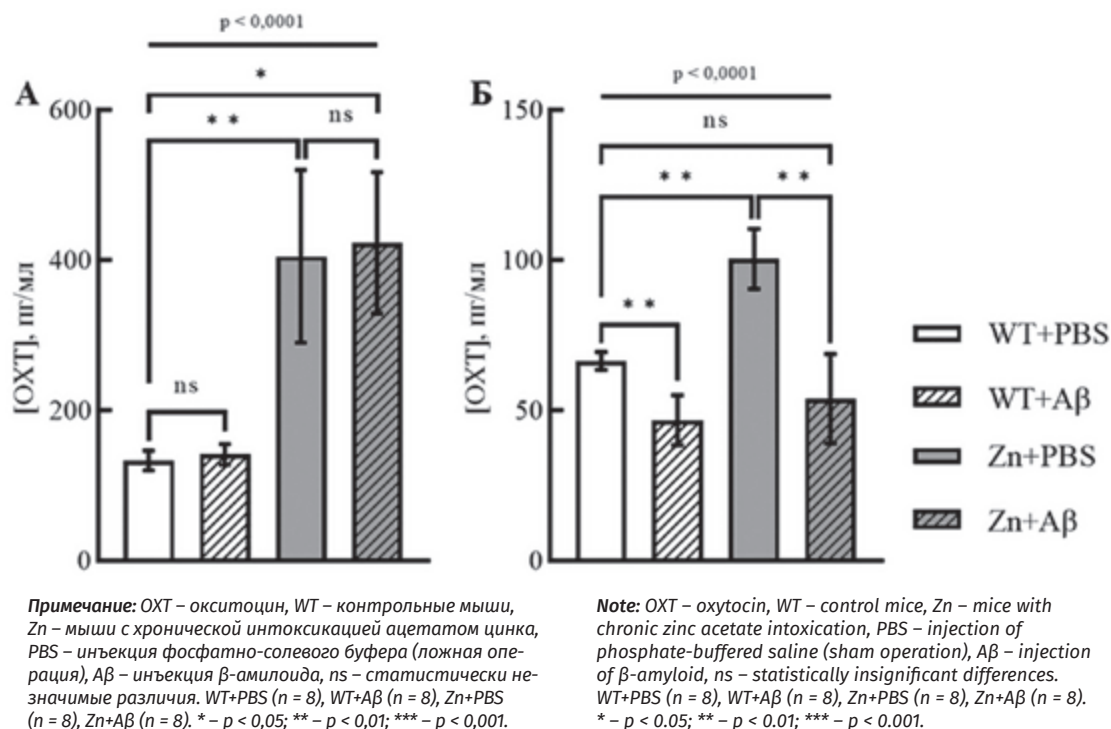
кацией  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$ , равно как и только воздействие последнего, приводило к значимому повышению уровня ОХТ в спинномозговой жидкости: группа Zn+PBS ( $405,41 \pm 115,02$  пг/мл, n = 8, p = 0,0095, критерий Манна-Уитни) и Zn+Aβ ( $423,18 \pm 93,96$  пг/мл, n = 8, p = 0,0286, критерий Манна-Уитни) относительно группы WT+PBS ( $133,44 \pm 13,42$  пг/мл, n = 8). Однако только лишь острое токсическое действие Aβ не вызвало существенных изменений в уровне ОХТ относительно группы WT+PBS.

#### Уровень ОХТ в плазме крови

При оценке степени изменения уровня ОХТ во всех четырех экспериментальных группах при одномоментном сравнении нами были выявлены статистически значимые различия (p < 0,0001, тест Краскала-Уоллиса) (рисунк 5Б). Установлено, что на выраженное повышение уровня ОХТ оказала значимое влияние хроническая интоксикация  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$ : группа Zn+PBS ( $100,44 \pm 10,01$  пг/мл, n = 8, p = 0,0095, критерий Манна-Уитни) относительно груп-

**Рисунок 5.** Результаты измерений концентрации окситоцина в (А) спинномозговой жидкости и (Б) плазме крови мышей.

**Figure 5.** Results of measurements of oxytocin concentration in (A) cerebrospinal fluid and (B) blood plasma of mice.



пы WT+PBS ( $66,47 \pm 2,94$  пг/мл,  $n = 8$ ). Интересно, что совершенно противоположный эффект вызвало именно острое токсическое действие Аβ в обеих опытных группах: группа WT+Аβ ( $46,80 \pm 8,31$  пг/мл,  $n = 8$ ,  $p = 0,0095$ , критерий Манна-Уитни) относительно группы WT+PBS ( $66,47 \pm 2,94$  пг/мл,  $n = 8$ ) и группа Zn+Аβ ( $53,92 \pm 14,88$  пг/мл,  $n = 8$ ,  $p = 0,0095$ , критерий Манна-Уитни) относительно группы Zn+PBS ( $100,44 \pm 10,01$  пг/мл,  $n = 8$ ). При этом его сопряженное воздействие с  $Zn(CH_3CO_2)_2$  не дало достоверных изменений уровня ОХТ: группа Zn+Аβ ( $53,92 \pm 14,88$  пг/мл,  $n = 8$ ,  $p = 0,1472$ , критерий Манна-Уитни) относительно WT+PBS ( $66,47 \pm 2,94$  пг/мл,  $n = 8$ ).

## Обсуждение

Существует множество исследований, подтверждающих противовоспалительные и нейропротекторные эффекты экзогенного ОХТ в головном мозге [13,21,22]. Известно, что в экспериментальных моделях острого воспаления головного мозга мышей, вызванного инъекцией бактериального эндотоксина, превентивное интраназальное введение ОХТ снижает воспалительные реакции в головном мозге [23]. Помимо этого, существуют свидетельства о том, что в ответ на воздействие стрессоров эндогенный ОХТ способен высвобождаться и проявлять нейропротекторные и антиоксидантные свойства. В частности, на экспериментальной модели ишемического инсульта было продемонстрировано активное высвобождение эндогенного ОХТ, который, в свою очередь, запускает защитные и антиоксидантные механизмы в нейрональных клетках, тем самым заметно снижая область поражения [24]. Полученные нами результаты количественного анализа ОХТ в тканях ряда регионов головного мозга и в биологических жидкостях мышей свидетельствуют об изменении продукции и/или выброса эндогенного ОХТ в ответ на воздействие таких химических стрессоров, как хроническая интоксикация  $Zn(CH_3CO_2)_2$ , острое токсическое действие Аβ и их сочетанное воздействие.

Так нами выявлено, что хроническая интоксикация  $Zn(CH_3CO_2)_2$ , а также его комбинация с Аβ вызывает сходный паттерн изменения уровня ОХТ – значимое повышение в гиппокампе и энторинальной коре – ключевых структурах, участвующих в консолидации памяти, в том числе эмоциональной. При этом только лишь острое токсическое действие Аβ не вы-

зывает столь заметного сдвига определяющего нейропептида. Однако не столь однозначная картина наблюдается в миндалевидном теле, а именно: острое токсическое действие Аβ, равно как и хроническая интоксикация  $Zn(CH_3CO_2)_2$ , приводят к резкому снижению уровня ОХТ. Вместе с тем острое токсическое действие Аβ на фоне хронической интоксикации  $Zn(CH_3CO_2)_2$  (при сравнении с группой Zn+PBS) способствовало запуску диаметрально противоположной окситоцинергической регуляции – значимому повышению уровня ОХТ. При этом весьма неожиданным является отсутствие существенного влияния сочетанного действия  $Zn(CH_3CO_2)_2$  и Аβ. Такое полярное проявление активности ОХТ в зависимости от региона головного мозга в патофизиологических условиях может быть обусловлено нарушением анатомической связи, вследствие дегенеративных процессов в тканях, и, как итог, функциональной связи между гиппокампальной формацией (гиппокамп и энторинальная кора) и миндалевидным телом. Мы предполагаем, что такое нарушение может затрагивать и окситоцинергическую иннервацию в данных областях головного мозга. Известно, что сигналы из миндалевидного тела модулируют три-синаптический путь гиппокампа, получающего сигналы из энторинальной коры [25]. Этот путь имеет решающее значение для формирования и реализации памяти об эмоционально окрашенных событиях у животных.

Заслуживают внимания полученные нами результаты по активности окситоцинергической системы в гипоталамо-гипофизарной области как важнейшем центре регуляции высвобождения ОХТ в ответ на различные стимулы. Так, хроническая интоксикация  $Zn(CH_3CO_2)_2$  и его сочетанное действие с Аβ инициируют генерацию и высвобождение ОХТ, тогда как потенциалы острого токсического действия Аβ недостаточны для того, чтобы вызвать значимые изменения регуляции нейропептида. Гипоталамо-гипофизарная область, являющаяся нейроэндокринным центром, вырабатывает нейрогормоны, которые должны пересекать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и попадать в периферическую кровь, что делает ГЭБ гипоталамуса наиболее проницаемым относительно других регионов мозга [26]. Также существуют свидетельства о том, что тяжелые металлы способны проникать через ГЭБ и накапливаться в тканях мозга [27]. Помимо этого, в исследова-

нии Ding J. И др. показано то, что гипоталамус является наиболее уязвимой областью мозга для такого тяжелого металла, как хром (Cr(VI)), который в большей степени накапливался в гипоталамусе среди других областей мозга [28]. Таким образом, зафиксированное нами повышение уровня ОХТ в гипоталамо-гипофизарной области мышей с хронической интоксикацией  $Zn(CH_3CO_2)_2$  и его сочетанным воздействием с Аβ может свидетельствовать о том, что интенсивно накапливающийся цинк вносит доминирующий вклад в обнаруженные нами изменения окситоцинергической регуляции, в частности, в синтез и/или высвобождение ОХТ.

Сопоставляя результаты по изменению уровня ОХТ в различных регионах головного мозга с его уровнем в спинномозговой жидкости в зависимости от действия того или иного стресс-агента, обнаруживается следующая взаимосвязь: хроническая интоксикация  $Zn(CH_3CO_2)_2$  аналогично его сочетанному действию с Аβ вызывает значимое повышение нейропептида в спинномозговой жидкости, тогда как исключительно острое токсическое действие Аβ не оказывает выраженного влияния на изучаемый показатель, что зеркально отражает уровень ОХТ в гиппокампе, энторинальной коре и гипоталамо-гипофизарной области головного мозга. Подобный «сценарий» активности окситоцинергической системы вполне согласуется с утверждением Landgraf R. и др., согласно которому «уровни нейропептидов в спинномозговой жидкости по сути отражают более или менее «глобальную» активность соответствующего нейропептида в мозге» [29].

Паттерн изменения уровня ОХТ в плазме в условиях действия различных стрессоров ( $Zn(CH_3CO_2)_2$ , Аβ или их комбинации) контрастирует с таковым в спинномозговой жидкости. Так, острое токсическое действие Аβ в обеих опытных группах (группы WT+Аβ и Zn+Аβ относительно группы WT+PBS и группы Zn+PBS соответственно) инициировало значимое снижение уровня нейропептида в плазме, тогда как сочетанное воздействие двух стресс-агентов не оказало существенного влияния на изучаемый показатель. Согласно имеющимся в литературе данным, в физиологических условиях уровни центрального и периферического ОХТ не коррелируют между собой как у животных, так и у людей [30], однако некоторая положительная взаимосвязь наблюдалась после экспериментально вызванного стресса у грызунов [31] и «социального» прикоснове-

ния у людей [32]. Действительно, помимо головного мозга [33], рецепторы ОХТ экспрессируются в большинстве органов по всему телу, включая репродуктивные ткани, сердце, почки, кости и вегетативную нервную систему [34]. Это предполагает возможное участие периферического ОХТ в регуляции различных форм социального поведения и эмоциональных реакций [35,36]. В целом, при определенных контекстах изменения концентрации ОХТ на периферии, по-видимому, связаны с высвобождением ОХТ в головном мозге [37]. Тем не менее, динамика клиренса ОХТ из спинномозговой жидкости и плазмы различается, поэтому измерение в одной точке в плазме, вероятно, будут плохим предиктором уровня ОХТ в спинномозговой жидкости [38,39].

За последние несколько десятилетий был достигнут значительный прогресс в открытии, детальном изучении, и, как следствие, расширении спектра ОХТ опосредованных функций. На сегодняшний день доступно множество обзоров, обобщающих и подробно освещающих вовлеченность ОХТ в регуляцию поведенческих реакций – от материнского и сексуального поведения до affiliативного и тревожного [40–42]. Наряду с этим, все больше в фокусе внимания ученых становятся такие аспекты когнитивных способностей, модулируемые ОХТ, как процессы обучения и памяти [43,44].

Полученные нами результаты нейроповеденческого тестирования показали, что хроническая интоксикация  $Zn(CH_3CO_2)_2$ , токсическое действие Аβ и сочетанное воздействие этих факторов способствуют выраженному подавлению формирования условного рефлекса при оценке времени замирания мышей в 1-й день тестирования. Второй день тестирования был проведен для оценки способности мышей к извлечению контекстуальной памяти: хроническое воздействие  $Zn(CH_3CO_2)_2$  и острое токсическое действие Аβ существенно нарушают способность к извлечению контекстуальной памяти у мышей. Комбинированное воздействие этих факторов привело к снижению общего времени замирания во 2-й день тестирования как относительно контроля, так и относительно животных, которые подвергались только хроническому воздействию  $Zn(CH_3CO_2)_2$ .

Подобное ухудшение когнитивных функций животных согласуется с имеющимися литературными данными, в которых неоднократно было показано, что инъекционное воздействие Аβ ухудшает память животных [45]. Также суще-

ствуют свидетельства о том, что избыточное поступление  $Zn^{2+}$  в нейроны имеет выраженные нейротоксические эффекты [46], неизбежно приводящие к нарушению когнитивных функций.

На 3-й день тестирования, когда оценивалось формирование ассоциативной памяти у животных о приобретенном страхе, время замирания мышей с комбинированным воздействием хронической интоксикацией  $Zn(CH_3CO_2)_2$  и инъекцией Аβ статистически значимо не менялось относительно контроля. Однако в то же время мыши только с инъекционной моделью БА показали снижение времени замирания относительно контроля. Сопоставляя полученные результаты 3-го дня тестирования с уровнем ОХТ в миндалевидном теле, являющимся ключевой структурой мозга для приобретения и хранения памяти о страхе [47], можно заметить следующую зависимость. Сочетанное воздействие  $Zn(CH_3CO_2)_2$  и Аβ не вызвало статистически значимых изменений общего времени замирания относительно контроля, в то же время концентрация ОХТ в миндалевидном теле мышей этой же опытной группы статистически неотличима от контроля. Животные, подвергавшиеся только воздействию Аβ, продемонстрировали нарушение способности к формированию ассоциативной памяти о страхе и снижение уровня ОХТ в миндалевидном теле. Полученная нами картина зависимости когнитивных функций от уровня ОХТ в миндалевидном теле согласуется с прошлыми исследованиями, в которых было доказано позитивное влияние ОХТ на память мышей. Так, у мышей линии C57BL/6J с моделью сепсис-ассоциированной энцефалопатии ОХТ способствовал восстановлению синаптической функ-

ции, нейронной активности и облегчению когнитивной дисфункции [48]. Таким образом, можно сделать предположение, что ОХТ, компенсаторный выброс которого происходил в ответ на воздействие  $Zn(CH_3CO_2)_2$ , мог способствовать восстановлению когнитивных функций у мышей.

Но в то же время остается открытым вопрос об участии ОХТ миндалевидного тела в формировании ассоциативной памяти о страхе. Согласно имеющимся в литературе данным, у крыс введение агонистов рецепторов окситоцина (OXTR) в базолатеральную миндалину усиливало контекстуально обусловленное замирание, тогда как их введение в центральное ядро миндалины, напротив, подавляло эту реакцию [49]. Это говорит о том, что контроль условных реакций страха через усиление окситоциновой сигнализации зависит от локализации воздействия в миндалевидном теле.

## Заключение

В контексте нашего исследования основным вкладчиком в увеличение уровня ОХТ в тканях мозга и биологических жидкостях мышей является хроническое воздействие  $Zn(CH_3CO_2)_2$ . Несмотря на двойное токсическое действие ( $Zn(CH_3CO_2)_2$  и Аβ), животные продемонстрировали восстановление когнитивной функции до уровня контроля, чему, по всей видимости, могло способствовать нейропротекторное действие ОХТ, повышение уровня которого происходило в миндалевидном теле. Для уточнения причин зафиксированного нами изменения концентрации ОХТ необходимо провести иммуногистохимический анализ уровня OXTR в различных областях миндалевидного тела мышей.

## Вклад авторов

**В. Е. Цыпунов:** сбор и анализ данных, подготовка текста рукописи.

**Е. А. Пожиленкова:** разработка концепции и дизайна исследования.

**Я. В. Горина:** критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

**О. Л. Лопатина:** разработка концепции и дизайна исследования, утверждение окончательного варианта статьи.

Все авторы утвердили окончательную версию статьи.

## Author contributions

**Vitalii E. Tsyubov:** acquisition and analysis of data, wrote the manuscript.

**Elena A. Pozhilenkova:** study concept and design.

**Yana V. Gorina:** – critical revision of the manuscript for important intellectual content.

**Olga L. Lopatina:** study concept and design, wrote the manuscript.

All authors approved the final version of the article.

## Литература :

1. Scheltens P., De Strooper B., Kivipelto M., Holstege H., Chételat G., Teunissen C.E., et al. Alzheimer's disease. *The Lancet*. 2021;397(10284):1577–1590. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)32205-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)32205-4)
2. McKhann G.M., Knopman D.S., Chertkow H., Hyman B.T., Jack C.R. Jr., Kawas C.H., et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia*. 2011;7(3):263–269. <https://doi.org/10.1016/jalz.2011.07.003>

- mer's disease. *Alzheimer's dementia*. 2011;7(3):263–269. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>
3. Jack C.R. Jr., Bennett D.A., Blennow K., Carrillo M.C., Dunn B., Haeblerlein S.B., et al. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's dementia*. 2018;14(4):535–562. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>
4. Ali M.U., Anwar L., Ali M.H., Iqbal M.K., Iqbal A., Baboota S., et al. Signalling pathways involved in microglial activation in Alzheimer's disease and potential neuroprotective role of phytoconstituents. *CNS Neurol. Disord. Drug. Targets*. 2024;23(7):819–840. <https://doi.org/10.2174/1871527322666221223091529>
5. Dehkordi M.M., Nodeh Z.P., Dehkordi K.S., Khorjistan R.R., Ghafarzadeh M. Soil, air, and water pollution from mining and industrial activities: Sources of pollution, environmental impacts, and prevention and control methods. *Results. Eng.* 2024; 23(31):102729. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102729>
6. Liu H.Y., Gale J.R., Reynolds I.J., Weiss J.H., Aizenman E. The multifaceted roles of zinc in neuronal mitochondrial dysfunction. *Biomedicines*. 2021;9(5):489. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050489>
7. Pan R., Liu K.J., Qi Z. Zinc causes the death of hypoxic astrocytes by inducing ROS production through mitochondria dysfunction. *Biophysics Reports*. 2019;5:209–217. <https://doi.org/10.1007/s41048-019-00098-3>
8. Cheng H., Yang B., Ke T., Li S., Yang X., Aschner M., et al. Mechanisms of metal-induced mitochondrial dysfunction in neurological disorders. *Toxics*. 2021;9(6):142. <https://doi.org/10.3390/toxics9060142>
9. Bush A.I., Pettingell W.H., Multhaup G., d Paradis M., Vonsattel J.P., Gusella J.F., et al. Rapid induction of Alzheimer A beta amyloid formation by zinc. *Science*. 1994;265(5177):1464–1467. <https://doi.org/10.1126/science.8073293>
10. An W.L., Bjorkdahl C., Liu R., Cowburn R.F., Winblad B., Pei J.J. Mechanism of zinc-induced phosphorylation of p70 S6 kinase and glycogen synthase kinase 3β in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J. Neurochem*. 2005;92(5):1104–1115. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02948.x>
11. Boom A., Authalet M., Dedecker R., Frïddïrick C., Van Heurck R., Daubie V., et al. Bimodal modulation of tau protein phosphorylation and conformation by extracellular Zn<sup>2+</sup> in human-tau transfected cells. *Biochim. Biophys. Acta*. 2009;1793(6):1058–1067. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.11.011>
12. Mo Z.Y., Zhu Y.Z., Zhu H.L., Fan J.B., Chen J., Liang Y. Low micromolar zinc accelerates the fibrillization of human tau via bridging of Cys-291 and Cys-322. *J. Biol. Chem*. 2009;284(50):34648–34657. <https://doi.org/10.1074/jbc.m109.058883>
13. El-Ganainy S.O., Soliman O.A., Ghazy A.A., Allam M., Elbahnasi A.I., Mansour A.M. et al. Intranasal oxytocin attenuates cognitive impairment, β-amyloid burden and tau deposition in female rats with Alzheimer's disease: interplay of ERK1/2/GSK3β/caspase-3. *Neurochem. research*. 2022;47(8):2345–2356. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03624-x>
14. Selles M.C., Fortuna J.T. S., de Faria Y.P. R., Siqueira L.D., Lima-Filho R., Longo B.M., et al. Oxytocin attenuates microglial activation and restores social and non-social memory in APP/PS1 Alzheimer model mice. *Isience*. 2023;26(4):106545. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106545>
15. Inoue T., Yamakage H., Tanaka M., Kusakabe T., Shimatsu A., Satoh-Asahara N. Oxytocin suppresses inflammatory responses induced by lipopolysaccharide through inhibition of the eIF-26–ATF4 pathway in mouse microglia. *Cells*. 2019;8(6):527. <https://doi.org/10.3390/cells8060527>
16. Авлиякульева А. М., Киндякова Е. К., Кузьмина С. В., Горина Я. В., Лопатина О. Л. Роль нейропептидов (окситоцин, вазопрессин, нейропептид S) в развитии когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):105–115. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-105-115>
17. Neumann I.D. Brain oxytocin: a key regulator of emotional and social behaviours in both females and males. *J. Neuroendocrinol.* 2008;20(6):858–865. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01726.x>
18. Иптышев А. М., Горина Я. В., Лопатина О. Л., Комлева Ю. К., Салмина А. Б. Экспериментальные модели болезни Альцгеймера: преимущества и недостатки. *Сибирское медицинское обозрение*. 2016;4(100):5–21.
19. Gorina Y. V., Komleva Y. K., Lopatina O. L., Volkova V. V., Chernykh A. I., Shabalova A. A., et al. The battery of tests for experimental behavioral phenotyping of aging animals. *Adv. Gerontol.* 2017;7:137–142. <https://doi.org/10.1134/S2079057017020060>
20. Paxinos G., Franklin's Keith B.J. Paxinos and The mouse brain in stereotaxic coordinates. 5th Edition. Elsevier Academic Press; 2019.
21. Etehad Moghadam S., Azami Tameh A., Vahidinia Z., Atlasi M.A., Hassani Bafrani H., Naderian H. Neuroprotective Effects of Oxytocin Hormone after an Experimental Stroke Model and the Possible Role of Calpain-1. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2018;27(3):724–732. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.10.020>
22. Momenabadi S., Vafaei A.A., Bandegi A.R., Zahedi-Khorasani M., Mazaheri Z., Vakili A. Oxytocin reduces brain injury and maintains blood–brain barrier integrity after ischemic stroke in mice. *Neuromolecular med.* 2020;22(4):557–571. <https://doi.org/10.1007/s12017-020-08613-3>
23. Yuan L., Liu S., Bai X., Gao Y., Liu G., Wang X., et al. Oxytocin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in microglial cells and attenuates microglial activation in lipopolysaccharide-treated mice. *J. Neuroinflammat.* 2016;13(1):77. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0541-7>
24. Karelina K., Stuller K.A., Jarrett B., Zhang N., Wells J., Norman G.J., et al. Oxytocin mediates social neuroprotection after cerebral ischemia. *Stroke*. 2011;42(12):3606–3611. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.111.628008>
25. Shechner T., Hong M., Britton J.C., Pine D.S., Fox N.A. Fear conditioning and extinction across development: evidence from human studies and animal models. *Biol. Psychol.* 2014;100:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2014.04.001>
26. Haddad-Tyvolli R., Dragano N.R. V., Ramalho A.F. S., Velloso L.A. Development and Function of the Blood-Brain Barrier in the Context of Metabolic Control. *Front. Neurosci.* 2017;11:224. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00224>
27. Andrade V.M., Aschner M., Marreilha Dos Santos A.P. Neurotoxicity of Metal Mixtures. *Adv. Neurobiol.* 2017;18:227–265. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-60189-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-60189-2_12)
28. Ding J., Sun B., Gao Y., Zheng J., Liu C., Huang J., et al. Evidence for chromium crosses blood brain barrier from the hypothalamus in chromium mice model. *Ecotoxicol. Environmen. Saf.* 2024;273:116179. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116179>
29. Landgraf R., Neumann I.D. Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. *Front. Neuroendocrinol.* 2004;25(3-4):150–176. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2004.05.001>
30. Valstad M., Alvares G.A., Egknud M., Matziorinis A.M., Andreassen O.A., Westlye L.T., et al. The correlation between central and peripheral oxytocin concentrations: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017;78:117–124. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.04.017>
31. Babygirija R., Blybly M., Yoshimoto S., Ludwig K., Takahashi T. Central and peripheral release of oxytocin following chronic homotypic stress in rats. *Auton. Neurosci.* 2012;167(1-2):56–60. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2011.12.005>
32. Handlin L., Novembre G., Lindholm H., Kdmpe R., Paul E., Morrison I. Human endogenous oxytocin and its neural correlates show adaptive responses to social touch based on recent social context. *Elife*. 2023;12:eLife.81197. <https://doi.org/10.7554/elife.81197>
33. Rokicki J., Kaufmann T., de Lange A.G., van der Meer D., Bahrami S., Sartorius A.M., et al. Oxytocin receptor expression patterns in the human brain across development. *Neuropsychopharmacology*. 2022;47(8):1550–1560. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01305-5>
34. Gimpl G., Fahrenholz F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol. Rev.* 2001;81(2):629–683. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.629>
35. Althammer F., Eliava M., Grinevich V. Central and peripheral release of oxytocin: Relevance of neuroendocrine and neurotransmitter actions for physiology and behavior. *Handb. Clin. Neurol.* 2021;180:25–44. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820107-7.00003-3>
36. Leckman J.F. Variations in maternal behavior--oxytocin and reward pathways--peripheral measures matter? *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(13):2587–2588. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.201>

37. Freeman S.M., Samineni S., Allen P.C., Stockinger D., Bales K.L., Hwa G.G., et al. Plasma and CSF oxytocin levels after intranasal and intravenous oxytocin in awake macaques. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;66:185–194. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.01.014>
38. Coppeto D.J., Martin J.S., Ringen E.J., Palmieri V., Young L.J., Jaeggi A.V. Peptides and primate personality: Central and peripheral oxytocin and vasopressin levels and social behavior in two baboon species (*Papio hamadryas* and *Papio anubis*). *Peptides*. 2024;179:171270. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2024.171270>
39. Parmaksiz D., Kim Y. Navigating Central Oxytocin Transport: Known Realms and Uncharted Territories. *The Neuroscientist* 2024;31(3):234–261. <https://doi.org/10.1177/10738584241268754>
40. Froemke R.C., Young L.J. Oxytocin, Neural Plasticity, and Social Behavior. *Annu. Rev. Neurosci.* 2021;44:359–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-102320-102847>
41. Rigney N., de Vries G.J., Petrulis A., Young L.J. Oxytocin, Vasopressin, and Social Behavior: From Neural Circuits to Clinical Opportunities. *Endocrinology*. 2022;163(9):bqac111. <https://doi.org/10.1210/endo/bqac111>
42. Yao S., Kendrick K.M. How does oxytocin modulate human behavior? *Mol. psychiatry*. 2025;30(4):1639–1651. <https://doi.org/10.1038/s41380-025-02898-1>
43. Walia V., Wal P., Mishra S., Agrawal A., Kosey S., Dilipkumar Patil A. Potential role of oxytocin in the regulation of memories and treatment of memory disorders. *Peptides*. 2024;177:171222. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2024.171222>
44. Zhan S., Qi Z., Cai F., Gao Z., Xie J., Hu J. Oxytocin neurons mediate stress-induced social memory impairment. *Curr. Biol.* 2024;34(1):36–45.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.11.037>
45. Haass C., Selkoe D.J. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007;8(2):101–112. <https://doi.org/10.1038/nrm2101>
46. Sheline C.T., Behrens M.M., Choi D.W. Zinc-induced cortical neuronal death: contribution of energy failure attributable to loss of NAD(+) and inhibition of glycolysis. *J. Neurosci.* 2000;20(9):3139–3146. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.20-09-03139.2000>
47. Ehrlich I., Humeau Y., Grenier F., Ciocchi S., Herry C., Lüthi A. Amygdala inhibitory circuits and the control of fear memory. *Neuron*. 2009;62(6):757–771. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.026>
48. Jiang J., Zou Y., Xie C., Yang M., Tong Q., Yuan M., et al. Oxytocin alleviates cognitive and memory impairments by decreasing hippocampal microglial activation and synaptic defects via OXTR/ERK/STAT3 pathway in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy. *Brain, Behav. Immun.* 2023;114:195–213. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2023.08.023>
49. Lahoud N., Maroun M. Oxytocinergic manipulations in corticolimbic circuit differentially affect fear acquisition and extinction. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(10):2184–2195. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.04.006>

## References:

1. Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, Holstege H, Chhtelat G, Teunissen CE, et al. Alzheimer's disease. *The Lancet*. 2021;397(10284):1577–1590. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)32205-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)32205-4)
2. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's dementia*. 2011;7(3):263–269. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>
3. Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's dementia*. 2018;14(4):535–562. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>
4. Ali MU, Anwar L, Ali MH, Iqbal MK, Iqbal A, Baboota S, et al. Signalling pathways involved in microglial activation in Alzheimer's disease and potential neuroprotective role of phytoconstituents. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2024;23(7):819–840. <https://doi.org/10.2174/1871527322666221223091529>
5. Dehkordi MM, Nodah ZP, Dehkordi KS, Khorjestaan RR, Ghaffarzadeh M. Soil, air, and water pollution from mining and industrial activities: Sources of pollution, environmental impacts, and prevention and control methods. *Results Eng.* 2024; 23(31):102729. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2024.102729>
6. Liu HY, Gale JR, Reynolds IJ, Weiss JH, Aizenman E. The multifaceted roles of zinc in neuronal mitochondrial dysfunction. *Biomedicine*. 2021;9(5):489. <https://doi.org/10.3390/biomedicine9050489>
7. Pan R, Liu KJ, Qi Z. Zinc causes the death of hypoxic astrocytes by inducing ROS production through mitochondria dysfunction. *Biophysics Reports*. 2019;5:209–217. <https://doi.org/10.1007/s41048-019-00098-3>
8. Cheng H, Yang B, Ke T, Li S, Yang X, Aschner M, et al. Mechanisms of metal-induced mitochondrial dysfunction in neurological disorders. *Toxics*. 2021;9(6):142. <https://doi.org/10.3390/toxics9060142>
9. Bush AI, Pettingell WH, Multhaup G, d Paradis M, Vonsattel JP, Gusella JF, et al. Rapid induction of Alzheimer A beta amyloid formation by zinc. *Science*. 1994;265(5177):1464–1467. <https://doi.org/10.1126/science.8073293>
10. An WL, Bjorkdahl C, Liu R, Cowburn RF, Winblad B, Pei JJ. Mechanism of zinc-induced phosphorylation of p70 S6 kinase and glycogen synthase kinase 3β in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J Neurochem*. 2005;92(5):1104–1115. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02948.x>
11. Boom A, Authalet M, Dedecker R, Frédéric C, Van Heurck R, Daubie V, et al. Bimodal modulation of tau protein phosphorylation and conformation by extracellular Zn<sup>2+</sup> in human-tau transfected cells. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1793(6):1058–1067. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.11.011>
12. Mo ZY, Zhu YZ, Zhu HL, Fan JB, Chen J, Liang Y. Low micromolar zinc accelerates the fibrillization of human tau via bridging of Cys-291 and Cys-322. *J Biol Chem*. 2009;284(50):34648–34657. <https://doi.org/10.1074/jbc.m109.058883>
13. El-Ganainy SO, Soliman OA, Ghazy AA, Allam M, Elbahnasi AI, Mansour AM, et al. Intranasal oxytocin attenuates cognitive impairment, β-amyloid burden and tau deposition in female rats with Alzheimer's disease: interplay of ERK1/2/GSK3β/caspase-3. *Neurochem research*. 2022;47(8):2345–2356. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03624-x>
14. Selles MC, Fortuna JT S, de Faria YP R, Siqueira LD, Lima-Filho R, Longo BM, et al. Oxytocin attenuates microglial activation and restores social and non-social memory in APP/PS1 Alzheimer model mice. *Iscience*. 2023;26(4):106545. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106545>
15. Inoue T, Yamakage H, Tanaka M, Kusakabe T, Shimatsu A, Satoh-Asahara N. Oxytocin suppresses inflammatory responses induced by lipopolysaccharide through inhibition of the eIF-2α-ATF4 pathway in mouse microglia. *Cells*. 2019;8(6):527. <https://doi.org/10.3390/cells8060527>
16. Avliyakulyeva AM, Kindyakova EK, Kuzmina SV, Gorina YV, Lopatina OL. The role of neuropeptides (oxytocin, vasopressin, neuropeptide S) in the development of cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):105–115. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-105-115>
17. Neumann ID. Brain oxytocin: a key regulator of emotional and social behaviours in both females and males. *J Neuroendocrinol*. 2008;20(6):858–865. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01726.x>
18. Iptyshev AM, Gorina YaV, Lopatina OL, Komleva YuK, Salmina AB. Experimental models of Alzheimer's disease: advantages and disadvantages. *Siberian Medical Review*. 2016;4(100):5–21. (In Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-105-115>
19. Gorina YV, Komleva YK, Lopatina OL, Volkova VV, Chernykh AI, Shabalova AA, et al. The battery of tests for experimental behavioral phenotyping of aging animals. *Adv Gerontol*. 2017;7:137–142. <https://doi.org/10.1134/S2079057017020060>
20. Paxinos G, Franklin's Keith BJ. Paxinos and The mouse brain in stereotaxic coordinates. 5th Edition. Elsevier Academic Press; 2019.

21. Etehad Moghadam S, Azami Tameh A, Vahidinia Z, Atlasi MA, Hassani Bafrani H, Naderian H. Neuroprotective Effects of Oxytocin Hormone after an Experimental Stroke Model and the Possible Role of Calpain-1. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2018;27(3):724–732. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.10.020>
22. Momenabadi S, Vafaei AA, Bandegi AR, Zahedi-Khorasani M, Mazaheri Z, Vakili A. Oxytocin reduces brain injury and maintains blood-brain barrier integrity after ischemic stroke in mice. *Neuromolecular med*. 2020;22(4):557–571. <https://doi.org/10.1007/s12017-020-08613-3>
23. Yuan L, Liu S, Bai X, Gao Y, Liu G, Wang X, et al. Oxytocin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in microglial cells and attenuates microglial activation in lipopolysaccharide-treated mice. *J Neuroinflammation*. 2016;13(1):77. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0541-7>
24. Karelina K, Stuller KA, Jarrett B, Zhang N, Wells J, Norman GJ, et al. Oxytocin mediates social neuroprotection after cerebral ischemia. *Stroke*. 2011;42(12):3606–3611. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.111.628008>
25. Shechner T, Hong M, Britton JC, Pine DS, Fox NA. Fear conditioning and extinction across development: evidence from human studies and animal models. *Biol Psychol*. 2014;100:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2014.04.001>
26. Haddad-Tyvolli R, Dragano NR V, Ramalho AF S, Velloso LA. Development and Function of the Blood-Brain Barrier in the Context of Metabolic Control. *Front Neurosci*. 2017;11:224. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00224>
27. Andrade VM, Aschner M, Marreilha Dos Santos AP. Neurotoxicity of Metal Mixtures. *Adv Neurobiol*. 2017;18:227–265. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-60189-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-60189-2_12)
28. Ding J, Sun B, Gao Y, Zheng J, Liu C, Huang J, et al. Evidence for chromium crosses blood brain barrier from the hypothalamus in chromium mice model. *Ecotoxicol Environmen Saf*. 2024;273:116179. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116179>
29. Landgraf R, Neumann ID. Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. *Front Neuroendocrinol*. 2004;25(3-4):150–176. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2004.05.001>
30. Valstad M, Alvares GA, Egknud M, Matziorinis AM, Andreassen OA, Westlye LT, et al. The correlation between central and peripheral oxytocin concentrations: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2017;78:117–124. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.04.017>
31. Babygirija R, Bülbül M, Yoshimoto S, Ludwig K, Takahashi T. Central and peripheral release of oxytocin following chronic homotypic stress in rats. *Auton Neurosci*. 2012;167(1-2):56–60. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2011.12.005>
32. Handlin L, Novembre G, Lindholm H, Kämpe R, Paul E, Morrison I. Human endogenous oxytocin and its neural correlates show adaptive responses to social touch based on recent social context. *Elife*. 2023;12:eLife.81197. <https://doi.org/10.7554/elife.81197>
33. Rokicki J, Kaufmann T, de Lange AG, van der Meer D, Bahrami S, Sartorius AM, et al. Oxytocin receptor expression patterns in the human brain across development. *Neuropsychopharmacology*. 2022;47(8):1550–1560. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01305-5>
34. Gimpl G, Fahrenholz F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev*. 2001;81(2):629–683. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.629>
35. Althammer F, Eliava M, Grinevich V. Central and peripheral release of oxytocin: Relevance of neuroendocrine and neurotransmitter actions for physiology and behavior. *Handb Clin Neurol*. 2021;180:25–44. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820107-7.00003-3>
36. Leckman JF. Variations in maternal behavior--oxytocin and reward pathways--peripheral measures matter?! *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(13):2587–2588. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.201>
37. Freeman SM, Samineni S, Allen PC, Stockinger D, Bales KL, Hwa GG et al. Plasma and CSF oxytocin levels after intranasal and intravenous oxytocin in awake macaques. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;66:185–194. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.01.014>
38. Coppeto DJ, Martin JS, Ringen EJ, Palmieri V, Young LJ, Jaeggi AV. Peptides and primate personality: Central and peripheral oxytocin and vasopressin levels and social behavior in two baboon species (*Papio hamadryas* and *Papio anubis*). *Peptides*. 2024;179:171270. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2024.171270>
39. Parmaksiz D, Kim Y. Navigating Central Oxytocin Transport: Known Realms and Uncharted Territories. *Neuroscientist*. 2024;31(3):234–261. <https://doi.org/10.1177/10738584241268754>
40. Froemke RC, Young LJ. Oxytocin, Neural Plasticity, and Social Behavior. *Annu Rev Neurosci*. 2021;44:359–381. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-102320-102847>
41. Rigney N, de Vries GJ, Petrusis A, Young LJ. Oxytocin, Vasopressin, and Social Behavior: From Neural Circuits to Clinical Opportunities. *Endocrinology*. 2022;163(9):bqac111. <https://doi.org/10.1210/endo/bqac111>
42. Yao S, Kendrick KM. How does oxytocin modulate human behavior? *Mol psychiatry*. 2025;30(4):1639–1651. <https://doi.org/10.1038/s41380-025-02898-1>
43. Walia V, Wal P, Mishra S, Agrawal A, Kosey S, Dilipkumar Patil A. Potential role of oxytocin in the regulation of memories and treatment of memory disorders. *Peptides*. 2024;177:171222. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2024.171222>
44. Zhan S, Qi Z, Cai F, Gao Z, Xie J, Hu J. Oxytocin neurons mediate stress-induced social memory impairment. *Curr Biol*. 2024;34(1):36–45.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.11.037>
45. Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(2):101–112. <https://doi.org/10.1038/nrm2101>
46. Sheline CT, Behrens MM, Choi DW. Zinc-induced cortical neuronal death: contribution of energy failure attributable to loss of NAD(+) and inhibition of glycolysis. *J Neurosci*. 2000;20(9):3139–3146. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.20-09-03139.2000>
47. Ehrlich I, Humeau Y, Grenier F, Ciocchi S, Herry C, Lüthi A. Amygdala inhibitory circuits and the control of fear memory. *Neuron*. 2009;62(6):757–771. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.026>
48. Jiang J, Zou Y, Xie C, Yang M, Tong Q, Yuan M, et al. Oxytocin alleviates cognitive and memory impairments by decreasing hippocampal microglial activation and synaptic defects via OXTR/ERK/STAT3 pathway in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy. *Brain, Behav Immun*. 2023;114:195–213. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2023.08.023>
49. Lahoud N, Maroun M. Oxytocinergic manipulations in cortic limbic circuit differentially affect fear acquisition and extinction. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(10):2184–2195. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.04.006>

## Сведения об авторах

**Цыпун Виталий Евгеньевич**, младший научный сотрудник лаборатории социальных нейронаук; ассистент кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации; аспирант кафедры биофизики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет». **ORCID:** 0000-0002-7101-2717

## Authors

**Mr. Vitalii E. Tsyunov**, junior researcher, Laboratory social neuroscience, assistant, Department of Biological, Medicinal, Pharmaceutical, and Toxicological Chemistry, Voino-Yasenevsky Krasnoyarsk State Medical University; Postgraduate student, Department of biophysics, Siberian Federal University. **ORCID:** 0000-0002-7101-2717

**Пожиленкова Елена Анатольевна**, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры БМТ-1 «Биомедицинские технические системы», старший научный сотрудник НОЦ «Мягкая материя и физика флюидов» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)».

**ORCID:** 0000-0001-7857-0490

**Горина Яна Валерьевна**, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории социальных нейронаук, профессор кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры биофизики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет».

**ORCID:** 0000-0002-3341-155

**Лопатина Ольга Леонидовна**, доктор биологических наук, доцент, руководитель лаборатории социальных нейронаук, профессор кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры биофизики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет».

**ORCID:** 0000-0002-7884-2721

**Mrs. Elena A. Pozhilenkova**, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Department «Biomedical Engineering Systems», Senior researcher, Scientific and Educational Center «Soft Matter and Fluid Physics», Bauman Moscow State Technical University.

**ORCID:** 0000-0001-7857-0490

**Mrs. Yana V. Gorina** – Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, leading researcher, Laboratory of social neurosciences, Professor, Department of Biological, Medicinal, Pharmaceutical, and Toxicological Chemistry, Voino-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Professor, Department of biophysics, Siberian Federal University.

**ORCID:** 0000-0002-3341-155

**Mrs. Olga L. Lopatina** – Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Head, Laboratory of social neurosciences, Professor, Department of Biological, Medicinal, Pharmaceutical, and Toxicological Chemistry, Voino-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Professor, Department of biophysics, Siberian Federal University.

**ORCID:** 0000-0002-7884-2721