

На правах рукописи

АЛЫМОВ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАССТРОЙСТВ
АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО
РАЗВИТИЯ И ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ**

3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении
«Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»
(ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»)

Научный руководитель:

кандидат биологических наук

Капица Инга Геннадиевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры
неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики
ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

**Бадалян Оганес
Левонович**

доктор медицинских наук, главный научный сотрудник
лаборатории общей патологии нервной системы
ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»

**Кучеряну Валериян
Григорьевич**

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной
медицины»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2022 года в ___ часов на заседании
диссертационного совета 24.1.183.01, созданного на базе ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
В.В. Закусова» по адресу: 125315, Москва, Балтийская ул., д. 8

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ученой части ФГБНУ «НИИ фармакологии
имени В.В. Закусова» по адресу: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д.8 и на сайте
www.academpharm.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук,
профессор

**Вальдман Елена
Артуровна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Расстройства аутистического спектра (РАС) – расстройства развития нервной системы, сопровождающиеся отгороженностью от реального мира с неспособностью формирования общения и неравномерностью созревания психической, речевой и моторной сфер жизнедеятельности (Александровский, Ю.А. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 976 с.; Williamson, E. Rockville (MD): AHRQ (US). 2017. 713 p.). Общемировая распространенность РАС за последние десятилетия существенно увеличилась и оценивается на уровне 0,3-2% (Hyman, S. L. // *Pediatrics*. 2020. V. 145 (1). P. e20193447; Lai, M. C. // *Lancet*. 2014 V. 383. P. 896-910; Qiu, S. // *Psychiatry Res*. 2020. V. 284. P. 112679). По данным Росстата, показатели заболеваемости в РФ детским и атипичным аутизмом в возрасте до 14 лет с 2014 по 2018 гг. увеличились на 107,1%, у подростков 15-16 лет – на 206,4% (Общественная организация «Российское общество психиатров». М.: Министерство здравоохранения РФ, 2020. 125 с.). Вне зависимости от формы заболевания, РАС характеризуются триадой нарушений: дефицитом социальных взаимодействий, нарушением взаимной коммуникации, ограниченностью интересов с повторяющимся репертуаром поведения (Myers, S. M. // *Pediatr Ann*. 2009. V. 38 (1). P. 42–49), причем первые симптомы могут быть выявлены уже в возрасте 3 месяцев (Bhat, A. N. // *Infant Behav Dev*. 2012. V. 35 (4). P. 838–846). Пик диагностики РАС обычно приходится на 3-7 лет, когда появляется организованная социальная среда (British Psychological Society. Leicester: NCCMH (UK). 2012. 44 p.). В дальнейшем развитие ребенка идет с задержкой; нарушения часто сохраняются пожизненно, уже со школьного возраста могут наблюдаться повышенная тревожность, агрессия, отрешенность, боязнь новой обстановки, жесткая приверженность распорядку дня (Lai M.C., 2014). РАС является не только медицинской, но и социальной проблемой. По совокупным оценкам, медицинские расходы на человека с РАС в год оцениваются в \$29000, а немедицинские затраты – в \$38000-43000 (Rogge, N. // *J Autism Dev Disord*. 2019. V. 49 (7). P. 2873–2900). Сложности в лечении РАС определяются хроническим течением заболевания и резистентностью к терапии.

Однозначные взгляды на этиологию РАС на текущий момент не сформированы. В патогенез заболевания вовлекаются генетические и аутоиммунные факторы, окислительный стресс, дефекты развития нервной системы на ранних этапах онтогенеза, нарушения синаптогенеза, нарушения в функционировании и взаимодействии нейромедиаторных систем, факторы внешней среды (Marotta, R. // *Brain Sci*. 2020. V. 10 (3). P. 163). В частности, одним из факторов внешней среды является прием во время беременности вальпроатов, сопровождающийся высокой вероятностью рождения детей с задержкой развития когнитивной и психомоторной сфер, речи, которые являются основными чертами РАС (Andrade, C. // *J Clin Psychiatry*. 2018. V. 79 (3). P. 18f12351).

Согласно современной нейрохимической гипотезе РАС, развитие заболевания обусловлено, прежде всего, нарушениями нейротрансмиттерных систем, в том числе

функциональными, совпадающими с критическими периодами развития ЦНС, и связано с серотонинергической, глутаматергической, ГАМК-ергической, дофаминергической, холинергической и опиатной системами мозга, а также с метаболизмом окситоцина, аргинин-вазопрессина, мелатонина (Marotta R. 2020; Williamson E. 2017).

Основой современной медикаментозной терапии РАС являются препараты (нейролептики, антидепрессанты, анксиолитики) для нейрохимической коррекции симптомов заболевания, однако у большинства пациентов она не обеспечивает высокий уровень качества жизни и социальную адаптацию, отличается значительной частотой развития тяжелых побочных эффектов, имеет ряд возрастных ограничений (Goel, R. // *Int Rev Psychiatry*. 2018. V. 30 (1). P:78-95; Williamson E., 2017). Применяемые препараты не обеспечивают общего эффекта на нейротрансмиттерные системы вследствие локального таргетного действия на определенные мишени, в частности, нейролептики воздействуют преимущественно на серотонин- и дофаминергическую системы, а антидепрессанты третьего поколения избирательно ингибируют обратный захват серотонина. В связи с вышеизложенным, остаются актуальными задачи, как дальнейшего изучения особенностей патогенеза РАС, в том числе онтогенетических, так и поиск средств лечения РАС с мультитаргетным механизмом действия.

Степень разработанности проблемы.

Поведение мышей BALB/c в новой обстановке обусловлено фенотипом ответа на стресс, характеризующимся как «freezing» реакция, что нейрохимически сопровождается падением связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМК_A-рецептора (Яркова, М.А. // *Бюлл эксп биол и мед*. 2014. Т. 157 (6). С. 733-735) и длительным снижением уровня BDNF в структурах мозга (Melkumyan, D.S. // *Bull. exp. biol. med*. 2005. V. 140 (11). P. 549-551). Кроме того для мышей BALB/c показан исходно низкий уровень NMDA-рецепторов и связывания бензодиазепинов в гиппокампе и префронтальной коре (Кондрахин, Е.А. // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2015. №1. С. 44-51). У мышей BALB/c обнаружено снижение концентрации серотонина в мозге, увеличение объема и массы головного мозга, недоразвитость крупных структур белого вещества мозга (Avraham, Y. // *Behav. Brain Res*. 2019. V. 364. P. 469-479; Brodtkin, E.S. // *Behav. Brain Res*. 2007. V.176. P. 53-65), уменьшение лобных и теменно-височных долей (Ellegood, J. // *Neurotherapeutics*. 2015. V. 12. P. 521-533).

На основе исследований, проведенных ранее в лаборатории психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», внедрена модель фетального вальпроатного синдрома (ФВС) у крыс линии Вистар и разработаны методические подходы для исследования нарушений, характерных для РАС (Капица, И.Г. // *Патогенез*. 2018. Т. 16 (2). С. 48-55; Капица, И.Г. // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2017. Т. 3. С. 34-38).

Перспективным направлением коррекции нарушений при РАС может оказаться применение лигандов сигма-1 рецепторов. Сигма-1 рецептор функционирует как белок-шаперон (Hayashi, T. // *Cell*. 2007. V. 131 (3). P. 596-610) и выступает в качестве универсального

регулятора внутри- и внеклеточных функций в условиях клеточного стресса, способствует реализации адаптационных реакций на клеточном и системном уровнях (Nguyen, L. // *Adv Exp Med Biol.* 2017. V. 964. P. 133-152). Сигма-1 рецепторы локализируются в высоких концентрациях в структурах головного мозга, ответственных за память, эмоции, сенсорное восприятие и тонкую моторику (Воробьева, О. В. // *Журн неврол и психиатр им. С.С. Корсакова.* 2012. Т. 10 (2). С. 51-56; Marotta R., 2020) и оказывают модулирующее влияние на все основные нейромедиаторные системы: ГАМК-, серотонин-, норадрен-, дофамин-, холинергическую системы и NMDA-регулируемые глутаматные эффекты, а также на пластические и трофические процессы в ЦНС (Nguyen L., 2017).

В ФГБНУ «НИИ Фармакологии им. В.В. Закусова» разработан небензодиазепиновый анксиолитик фабомотизол (МНН) (торговое наименование - афобазол) 5-этокси 2-[2-(морфолино) этилтио]-бензимидазола дигидрохлорид – агонист сигма-1 и мелатониновых МТ1-рецепторов, ингибитор регуляторных сайтов хинонредуктазы-2, обратимый селективный ингибитор МАО-А (Середенин, С. Б. // *Экспер клин фармакол.* 2009. Т. 72 (1). С. 3-11). При активации сигма-1 рецепторов фабомотизолом достигаются анксиолитический, нейропротекторный эффекты, улучшаются когнитивные функции (Вахитова, Ю.В. // *Вестн. РАМН.* 2019. Т. 488 (3). С. 329-332; Незнамов, Г.Г. // *Психиатрия и психофармакотерапия (экстравыпуск).* 2006. С.17-23; Середенин, С.Б. // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2009. Т. 72 (1). С.3-11; Сюняков, Т.С. // *Терапевтический архив (архив до 2018 г.).* 2016. Т. 88 (8). С. 73-86). Фабомотизол обладает антистрессовым действием, уменьшает выраженность экзо- и эндогенных воздействий на организм беременных крыс и на развитие их плодов и когнитивные функции потомства (Горбатова, Д. М. // *Бюлл эксп биол и мед.* 2014. Т. 158 (11). С. 604-608; Gorbatova, D.M. // *Russ J Genet Appl Res.* 2017. V. 7 (6). P. 712-716). Показано, что фабомотизол, улучшает психофизиологическое состояние у подверженных стрессу личностей, не снижая уровень внимания, психомоторного реагирования и скорость принятия решений (Богдан, Н.Г. // *Экспер клин фармакол.* 2011. Т. 74 (8). С. 8-12; Незнамов, Г.Г. // *Психиатрия и психофармакотерапия.* 2017. Т. 19 (3). С. 10-18). В исследованиях, проведенных на крысах линии Вистар с ФВС, фабомотизол обладал способностью улучшать ряд поведенческих показателей, характерных для РАС (Капица, И.Г. // *Экспер клин фармакол.* 2019. Т. 82 (10). С. 3-7; Kapitsa, I. // *Eur Neuropsychopharmacol.* 2019. V. 29 (6). P. S361).

Таким образом, фабомотизол по механизму действия и спектру фармакологических эффектов обладает комплексом свойств, позволяющих рассматривать препарат в качестве перспективного для фармакотерапии РАС.

Цель исследования: Изучить особенности расстройств аутистического спектра в эксперименте на разных этапах постнатального развития и возможности их фармакологической коррекции фабомотизолом.

Задачи исследования.

1. Изучить особенности поведения мышей линии BALB/c в тестах, применяемых для оценки симптомов PAC.
2. Изучить действие фабомотизола на особенности поведения мышей линии BALB/c (фенотипическая модель PAC).
3. Изучить поведенческие особенности мышей линии BALB/c с ФВС и влияние фабомотизола на них на раннем этапе постнатального развития (7-14 дни).
4. Изучить поведенческие особенности мышей линии BALB/c с ФВС ранне-пубертатного возраста (31-41 дни) и влияние фабомотизола на них.
5. Изучить поведенческие особенности мышей линии BALB/c с ФВС пубертатного и молодого взрослого возраста (47-62 дни) и влияние фабомотизола на них.
6. Изучить изменения уровней моноаминов при PAC у мышей линии BALB/c с ФВС на разных сроках их постнатального развития.
7. Изучить влияние фабомотизола на нейрохимические нарушения, наблюдаемые у мышей линии BALB/c с ФВС на разных этапах онтогенеза.

Методология и методы исследования. Изучение нарушений PAC проводилось с применением двух моделей: идиопатической – с использованием половозрелых самцов мышей линии BALB/c, обладающих как фенотипическими (низкий уровень социального взаимодействия, повышенные тревожность, агрессия и др.), так и анатомическими (большой размер головного мозга, недоразвитие или отсутствие мозолистого тела, уменьшение гиппокампа) (Brodkin, E. S. 2007) особенностями, свойственными PAC, и модели фетального вальпроатного синдрома – дисфункция нервной системы вызывалась пренатальным введением высокой дозы тератогенного агента – вальпроата натрия мышам линии BALB/c (Tartaglione, A. M. // *Neuropharmacology*. 2019. V. 159. P. 107477). Эксперименты осуществлялись в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Часть 1, М.: Гриф и К. 2012. 944 с.) и методическими подходами, приведенными в научных статьях по тематике исследования.

Изучение содержания моноаминов в структурах головного мозга и влиянии на них фабомотизола проводилось на разных сроках постнатального развития мышей с ФВС методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией.

Научная новизна. Впервые на фенотипической модели PAC – мышах линии BALB/c, показана способность фабомотизола оказывать влияние на основные симптомы заболевания: улучшать социальное взаимодействие и снижать когнитивную ригидность.

Показана способность фабомотизола оказывать нормализующее влияние на физическое и неврологическое развитие мышей BALB/c с ФВС в гнездовом периоде (оценка на 7-14 дни).

Впервые выявлено, что фабомотизол улучшает социальное, когнитивное и типичное видовое поведение у мышей BALB/c с ФВС, снижает тревожность, стереотипию в пубертатном

периоде и в возрасте молодых половозрелых животных (оценка на 31-41 и 47-62 дни).

Впервые показано позитивное влияние фабомотизола на основные симптомы РАС у мышей линии BALB/c с ФВС как у самцов, так и у самок.

Впервые установлено, что фабомотизол оказывает нормализующее воздействие на норадреналин-, дофамин- и серотонинергическую системы головного мозга в разных возрастных периодах у мышей линии BALB/c с ФВС.

Научно-практическая значимость. Совокупность полученных результатов подтверждает, что фабомотизол способствует нормализации фенотип-ассоциированного аутизм-релевантного поведения у мышей линии BALB/c и компенсирует нарушения, возникающие в условиях моделирования ФВС, что вероятно, происходит благодаря реализации адаптационных реакций на клеточном и системном уровнях через активацию сигма-1 рецепторов, и создает основу для поиска и разработки новых средств для лечения аутизма.

Выявленная способность фабомотизола компенсировать возникающие поведенческие и нейрохимические нарушения в экспериментальных моделях РАС определяет целесообразность дальнейшего изучения потенциала препарата и возможности его применения при лечении данной патологии.

Связь с планами НИР. Диссертация выполнена в рамках тематики ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», тема № 0521-2019-0007.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Мыши линии BALB/c могут служить моделью для изучения патогенеза РАС и оценки возможных средств коррекции заболевания.
2. Фабомотизол (10 мг/кг, однократно, внутривбрюшинно) на фенотипической модели РАС оказывает корригирующее влияние на основные симптомы РАС – нарушение социального взаимодействия, стереотипию, тревожность, дефицит когнитивных и обонятельных функций.
3. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь ежедневно с 7 по 14 дни жизни) на модели ФВС оказывает корригирующее влияние на развитие нервной системы и на нарушенную способность к социальному распознаванию у мышей линии BALB/c в перинатальном периоде (7-14 дни постнатального развития).
4. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь ежедневно с 7 по 41 дни жизни) на модели ФВС уменьшает тревожность и стереотипные проявления, снижает гиперактивность, увеличивает реакцию на предъявление социального объекта у мышей линии BALB/c в пубертатном периоде (31-41 дни постнатального развития).
5. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь ежедневно с 7 по 62 дни жизни) на модели ФВС нивелирует нарушения социального поведения, улучшает типично-видовую активность, облегчает когнитивный дефицит и уменьшает тревожность у мышей линии BALB/c в пубертатном и молодом взрослом периоде их онтогенетического развития (47-62 дни постнатального развития).

6. При моделировании ФВС наблюдается отставание или извращение процессов, связанных с оборотом моноаминов в головном мозге мышей линии BALB/c в перинатальном и молодом взрослом периодах их постнатального развития.

7. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь ежедневно с 7 по 64 дни жизни) на модели ФВС способствует нормализации нейрхимического профиля моноаминов у мышей линии BALB/c в перинатальном и молодом взрослом периодах постнатального развития.

Личный вклад автора состоит в разработке дизайна исследования, проведении экспериментов, систематизации и обработке результатов, сборе и анализе литературных данных. При активном участии соискателя сформулированы положения, выносимые на защиту и выводы, подготовлены публикации по результатам диссертационного исследования.

Апробация. Основные положения диссертационной работы были представлены на Второй научной конференции молодых ученых «Актуальные исследования в фармакологии». Москва, 28-29 октября 2021

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых журналах перечня ВАК РФ, входящих в международные базы Web of Science, Scopus и 2 тезиса в материалах российских научных конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 141 листе машинописного текста, содержит 33 таблицы, иллюстрирована 10 рисунками и фотографиями. Список литературы включает 336 источников, из них 47 – отечественные и 289 – иностранные.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Препараты. В работе использовали субстанцию фабоматизола (АО «Отисифарм», серия 189638-30-0, дата производства 05/2018), натриевую соль вальпроевой кислоты (ВПК) (Sigma-Aldrich, Merck), дистиллированную воду, физиологический раствор (ООО «Фармлэнд»).

Экспериментальные животные. В работе использовались половозрелые самцы мышей линий BALB/c и C57Bl/6, самцы аутбредных мышей SHK, а также самцы и самки мышей линии BALB/c с рождения до молодого взрослого возраста (64 дня), родительское поколение которых, как и вышеперечисленные животные, было получено из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (Московская область). Содержание животных осуществлялась в соответствии с ГОСТ 33216-2014 и 33215-2014. Эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами: Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, и с одобрения Комиссии по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (протокол №1 от 2019 г.)

Исследование мышей линии BALB/c как фенотипической модели PAC выполнено на самцах массой 13-15 г в сравнении с самцами мышей того же возраста линии C57Bl/6 массой 20-22 г и аутбредных мышей SHK массой 22-26 г на начало эксперимента.

Изучение действия фабомотизола на особенности поведения мышей линии BALB/c проводили на самцах массой 20-22 г. Фабомотизол (10 мг/кг), вводили внутривентриально за 40 минут до начала эксперимента, животным контрольной группы внутривентриально вводили 0,9% раствор хлорида натрия в эквивалентном объеме (0,1 мл на 10 г веса).

Для моделирования РАС на 12,5 день беременности (E12,5) самкам мышей BALB/c подкожно вводили ВПК в дозе 400 мг/кг (Tartaglione, A. M. 2019), а самкам, из потомства которых формировали группы «пассивного» контроля – 0,9% раствор хлорида натрия в эквивалентном объеме (0,1 мл на 10 г веса). День появления мышат принимали за нулевые сутки постнатального развития (P0). Полученное потомство было разделено на 8 групп: «Контроль», «Контроль+Фабомотизол», «ФВС», «ФВС+Фабомотизол» отдельно для самцов и самок. Фабомотизол вводили ежедневно перорально (10 мг/кг) с P7 до окончания исследования (максимально до P64), животные контрольных групп в том же режиме получали дистиллированную воду. Оценка выраженности симптомов РАС проводилась в следующие возрастные периоды: до 21-го дня постнатального развития – перинатальный период, до 42-го дня – ювенильный и пубертатный периоды, до 64-го – пубертатный период и начало совершеннолетия (молодое взрослое животное).

Методы исследования. Для изучения нарушений, возникающих в условиях фенотипической модели РАС, использовали тесты, приведенные в таблице 1.

Таблица 1 – Тесты, примененные для оценки особенностей поведения мышей линии BALB/c (фенотипическая модель РАС) и действия на них фабомотизола

Экспериментальные процедуры	Библиографическая ссылка
«социальное взаимодействие»	Bambini-Junior V. Neurosci Lett. 2014. V. 583. P. 176-181
«обонятельная дискриминация»	Silverman J.L. Nat Rev Neurosci. 2010. V. 11 (7). P. 490-502
«обонятельная габитуация/дисгабитуация»	Ryan B.C. Behav Brain Res. 2010. V. 208. P. 178-188
«обследование отверстий»	Radyushkin K. Genes Brain Behav. 2009. V. 8. P. 416-425.
«Т-образный лабиринт с пищевым подкреплением»	Moy S.S. Behav Brain Res. 2007. V. 176 (1). P. 4-20
«водный лабиринт Морриса»	
«закрытый крестообразный лабиринт»	«Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств», 2012
«открытое поле со сменной освещенности»	

Для изучения поведения мышей BALB/c с ФВС использовали тесты, позволяющие оценить развитие ЦНС, физическое развитие (прирост веса, открытие глаз), двигательную и ориентировочную активность, социальное и видовое поведение, стереотипию, тревожность, когнитивные способности (табл. 2)

В работе были использованы установки ООО НПК «Открытая Наука» (Россия), актометр LE 8825 IR Motor Activity Monitor V 08/05/120 (Испания).

Часть животных на P15, P42 и P65 отбирали для оценки содержания моноаминов и их метаболитов (норадреналин (NA), DA, 3,4-диокси(гидрокси)фенилукусная кислота (DOPAC), гомованилиновая кислота (HVA), 3-метилтирамин (3-МТ), 5-НТ, 5-окси(гидрокси)индолукусная кислота (5-Н1АА)) во фронтальной коре, гипоталамусе, стриатуме и гиппокампе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией.

Таблица 2 – Тесты, примененные для оценки поведения мышей линии BALB/c с ФВС и действия на них фабототизола

Экспериментальные процедуры	Возраст, P	Библиографическая ссылка
Тесты, проводимые в гнездовом периоде: 6-14 дни постнатального развития		
«переворот на плоскости»	P6-P10	Wagner G. C. J Autism Dev Disord. 2006. V. 36 (6). P. 779-793
«отрицательный геотаксис»	P7-P12	
«избегание обрыва»	P7-P10	Gozes I. Neuropeptide Techniques. Neuromethods №39. T.: Humana Press Inc., 2008. P. 131-149
«веревочка»	P10-P13	
«вздрагивание на хлопок»	P10-P14	
ушной рефлекс	P10-P14	
«переворот в воздухе»	P10-P14	Schneider T. Neuropsychopharmacology. 2005. V. 30. P. 80-89
сроки прозревания	P11-P14	Roulet, F. I. Neuroscience. 2010. V. 170 (2). P. 514-522
«предпочтение материнского запаха»	P14	Kane M. J. PLoS One. 2012. V. 7 (11). P. e48975
Тесты, проводимые в раннем пубертатном периоде: 31-41 дни постнатального развития		
«закрытый крестообразный лабиринт»	P31	«Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств», 2012
«квадратное малое открытое поле»	P32	
«перегородка»	P39	Kudryavtseva N.N. Behav Processes. 1994. V. 32 (3). P. 297-304
«автогруминг»	P41	Jahan M.S. BRO Reports. 2020. V. 9. P. 276-289
Тесты, проводимые в пубертатном и молодом взрослом периоде: 47-62 дни постнатального развития		
«водный лабиринт Морриса»	P47-51	Moy S.S. 2007
«социальное взаимодействие»	трехка- мерная установка	P52-P55
«социальное узнавание»		
		Bambini-Junior V. 2014.
		Crawley J. N. Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2004. V. 10 (4). P. 248-258
«построение гнезда»	P56-P57	Kim J. W. PLoS One. 2014. V. 9 (8). P. e104927
«закапывание шариков»	P57-P58	Chang Y. C. Curr Protoc in Toxicol. 2017. V. 72. P. 11.22.1-11.22.21
«Y-образный лабиринт с аверсивным запахом»	P61-P62	Hacquemand, R. Behav Brain Res. 2013. V. 238. P. 227-231

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «GraphPad Prism V. 8.4.3». Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена, дальнейшую обработку проводили с помощью метода непараметрической статистики Манна-Уитни. Для определения статистической значимости различий повторных измерений в группе использовали парный критерий Вилкоксона. При сравнении частотных показателей применяли точный критерий Фишера. Результаты представлены как среднее ± ошибка среднего (Mean ± SEM), или в виде данных, выраженных в %. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение особенностей поведения мышей линии BALB/c в поведенческих тестах, применяемых для оценки симптомов PAC.

В тесте «социальное взаимодействие», основанном на предпочтении социального объекта несоциальному, мыши линии BALB/c в сравнении с мышами линии C57Bl/6 демонстрировали низкий уровень социальных контактов (рис. 1а).

В тесте «обонятельной дискриминации» мыши BALB/c в 1,6 раза дольше искали «гнездо», при этом к опилкам с нейтральным запахом они подходили в 1,4 раза быстрее, чем мыши SHK (рис. 1б). При внутригрупповом сравнении различий между латентным временем выбора нейтральных опилок и опилок из домашней клетки у мышей BALB/c не обнаруживалось, тогда, как у мышей SHK отмечалось значимое предпочтение опилок «из

гнезда» – скорость подхода к ним была в 1,8 раз больше.

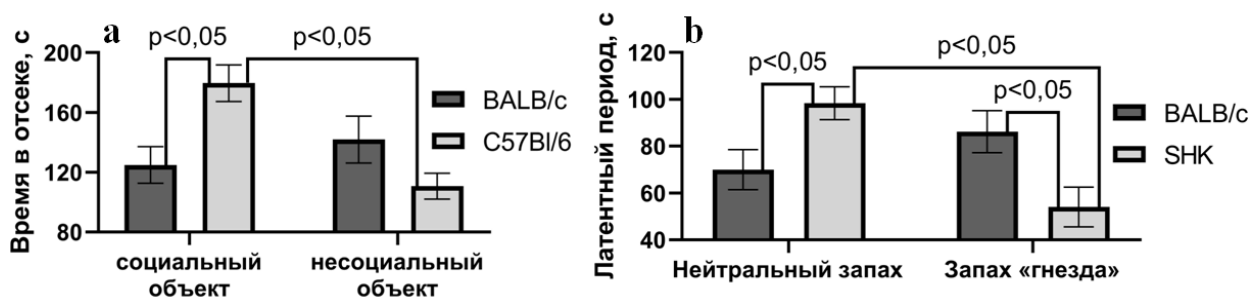


Рисунок 1 – Поведение мышей в тестах «социальное взаимодействие» (а), «обонятельной дискриминации» (b), Mean ± SEM

В тесте «обонятельной габитуации/дисгабитуации» у мышей BALB/c снижения реакции на запахи при повторном их предъявлении не наблюдалось, в отличие от мышей SHK (рис. 2). При этом у мышей BALB/c число актов закапываний в подстилку при предъявлении всех видов обонятельных стимулов было выше по сравнению с аутбредными мышами SHK.

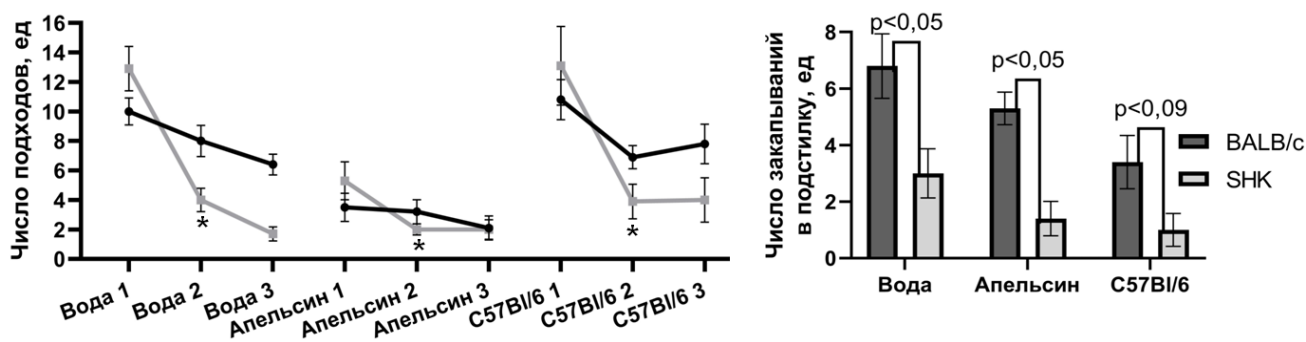


Рисунок 2 – Поведение мышей в тесте обонятельной габитуации/дисгабитуации, Mean ± SEM, * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «BALB/c».

В тесте «обследование отверстий» мыши линии BALB/c демонстрировали дефицит исследовательской активности при отсутствии различий в общей двигательной активности: продолжительность нахождения и число заглядываний в отверстия в центральной зоне установки было значительно ниже, чем в группе аутбредных мышей (рис. 3).

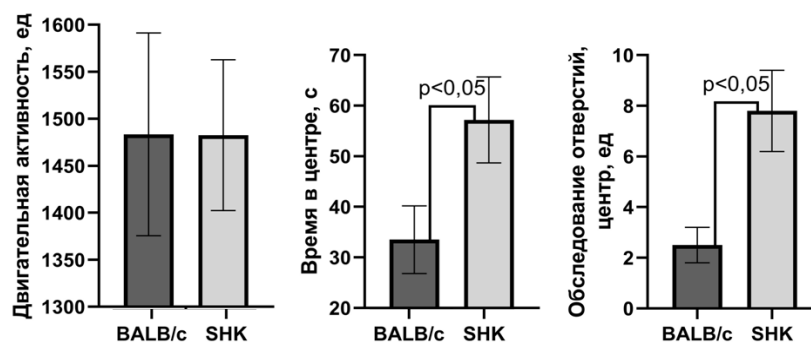


Рисунок 3 – Поведение мышей в тесте «обследование отверстий», Mean ± SEM

В тесте «открытое поле со сменной освещенности» самцы мышей BALB/c, независимо от условий опыта (свет или темнота), демонстрировали низкую двигательную активность в периферической, прецентральной и центральной частях установки в сравнении с мышами

C57Bl/6 (табл. 3). По сравнению с показателями, регистрируемыми при ярком освещении установки, в его отсутствие у мышей BALB/c отмечался рост числа перемещений (в среднем на 66,7%) в периферической и прецентральной частях поля. Возвращение к яркому освещению установки приводило к снижению на 33% активности на периферии и к уменьшению числа посещений «опасных» зон у мышей BALB/c, что не наблюдалось у мышей C57Bl/6, у которых отмечалось ещё и уменьшение числа заглядываний в «норки» (табл. 3).

Таблица 3 – Поведение мышей линии BALB/c и C57Bl/6 в условиях теста «открытое поле со сменой освещенности», Mean ± SEM

Параметр / группа		Мыши BALB/c, n=9	Мыши C57Bl6, n=8	
Яркий свет, 3 мин (пересчет на 1 мин)	латентное время начала движения	17,9±4,7	3,8±0,8*	
	число перемещений, ед.	периферия	5,1±1,0	18,6±1,9**
		2/3 поля	0,6±0,1	5,8±0,7**
		центр	0,0±0,0	0,4±0,1**
количество заглядываний в отверстия (норки)		4,1±0,4	7,3±0,5**	
Темнота 1 мин (красный свет)	число перемещений, ед.	периферия	9,2±1,8&	19,0±2,1**
		2/3 поля	1,0±0,5	7,5±1,4**
		центр	0,1±0,1	1,5±0,4**#
	количество заглядываний в отверстия (норки)		4,5±0,5	6,5±0,2*
Яркий свет, 1 мин	число перемещений, ед.	периферия	6,2±1,3	14,0±1,7**
		2/3 поля	0,3±0,2	4,7±1,0**
		центр	0,0±0,0	1,5±0,6**#
	количество заглядываний в отверстия (норки)		4,3±0,5	4,5±1,2&

Примечание: *, ** - $p < 0,05$; $p < 0,01$ по сравнению с мышами BALB/c; # - $p < 0,05$ по сравнению с параметром при предъявлении яркого света 1 раз (внутригрупповое сравнение); & - $p < 0,07$ по сравнению с параметром при предъявлении яркого света 1 раз (внутригрупповое сравнение).

Таким образом, поведенческими особенностями мышей линии BALB/c являются низкий уровень взаимодействия с социально значимыми стимулами, нарушение обонятельной габитуации, усиление тревожного и стереотипного поведения, уменьшение исследовательской активности. Полученные данные подтверждают возможность использования мышей линии BALB/c для моделирования PAC (фенотипическая модель) и оценки эффективности терапевтических средств для уменьшения симптомов заболевания.

Изучение действия фабомотизола на особенности поведения мышей линии BALB/c (фенотипическая модель PAC)

Фабомотизол улучшал социальное взаимодействие мышей BALB/c, увеличивая в 1,5 раза время их нахождения в отсеке с социальным объектом, по сравнению с другим отсеком, и уменьшая время нахождения в отсеке с несоциальным объектом и число подходов к нему по сравнению с контрольной группой (рис. 4).

Оценку влияния фабомотизола на когнитивную ригидность, являющуюся высокоуровневым проявлением стереотипии, проводили в тестах «Т-образный лабиринт» и «водный лабиринт Морриса» с реверсией обучения (Moу S.S. 2007).

В «Т-образном лабиринте с пищевым подкреплением» значимое влияние фабомотизола показано на 4 день опыта: латентное время выбора рукава, где накануне располагалась поилка с молоком, было в 3,9 раза меньше ($5,5 \pm 1,6$ vs $21,3 \pm 4,9$, $p < 0,05$), а число животных, выбравших

его при 1-ом посещении – на 24,4% больше. При переобучении фабомотизол увеличивал предпочтение рукава с поилкой: мыши проводили в нём в 2,5 раза больше времени по сравнению с альтернативным рукавом ($238,2 \pm 23,4$ vs $97,4 \pm 15,2$, $p < 0,05$).

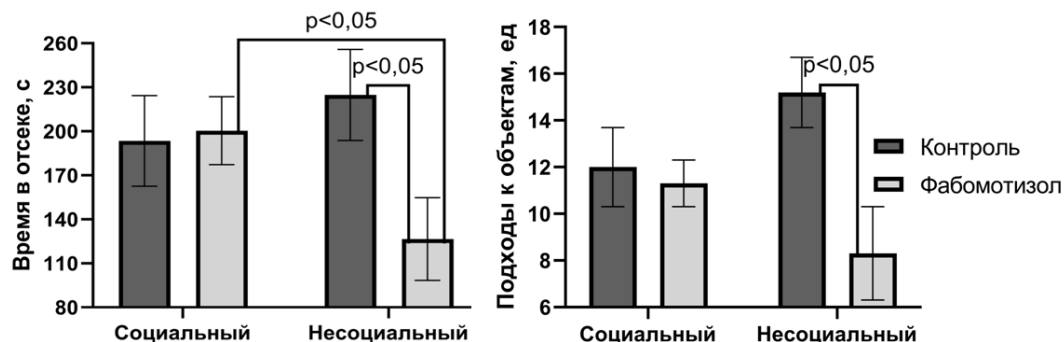


Рисунок 4 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c в тесте «социальное взаимодействие», Mean ± SEM

В тесте «водный лабиринт Морриса», при переобучении (перенос платформы в противоположный квадрант) фабомотизол уменьшал время поиска платформы на 46% и 65,5% и увеличивал на 56,5% и 40% число результативных попыток у мышей в 1 и 2 дни, соответственно. При воспроизведении навыка после реверсии фабомотизол увеличивал на 86,8% длительность пребывания мышей в новом целевом квадранте (табл. 4). Фабомотизол не влиял на процесс обучения и воспроизведение пространственного навыка у мышей BALB/c.

Таблица 4 – Влияние фабомотизола на поведение мышей линии BALB/c в лабиринте Морриса с реверсией обучения, Mean±SEM

Параметр/ группа	Контроль, ф.р., n=10		Фабомотизол, 10 мг/кг, n=10	
	Время поиска, с	Число попыток, ед.	Время поиска, с	Число попыток, ед.
Обучение после реверсии:				
1 день	44,9±4,3	2,3±0,4	24,3±3,9*	3,6±0,2*
2 день	46,9±4,2	2,4±0,3	16,2±3,3*	4,0±0,0*
Воспроизведение навыка:	Время нахождения в месте локализации платформы, с			
до реверсии	15,7±2,0		19,9±4,0	
после реверсии	10,6±1,4#		19,8±2,3*	

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # - $p < 0,05$ по сравнению со значением до реверсии.

Влияние фабомотизола на габитуацию у мышей линии BALB/c, оцениваемую по числу горизонтальных перемещений в актометре, изучали при 2-х режимах: однократной посадке в установку на 20 минут или на 5 минут в течение 2 последовательных дней. В качестве показателя габитуации использовали коэффициент угашения: отношение числа горизонтальных перемещений за последние 5 мин (или во 2-й день) к их числу за первые 5 мин (или в 1-й день). Фабомотизол вызвал облегчение габитуации: коэффициент угашения при однократной посадке составил 60,4% ($p < 0,05$), а при повторной – 64,4% ($p < 0,05$), что было на 23,3% ($p < 0,05$) и 19% больше, соответственно, чем в контрольной группе.

В тесте «закрытый крестообразный лабиринт» фабомотизол повышал скорость выполнения теста ($87,4 \pm 4,4$ vs $120,8 \pm 14,6$, $p < 0,05$) и эффективность патрулирования у мышей линии BALB/c: на 11,5% больше животных осуществило второе патрулирование за меньшее

число заходов в рукава ($4,4 \pm 0,3$ vs $5,3 \pm 0,2$, $p < 0,05$), что свидетельствует о снижении тревожности в условиях новой обстановки и улучшении когнитивных функций.

Реакция животных на обонятельные стимулы различной природы (запахи «Вода», «Лимон», «Моча самцов или самок мышей C57Bl/6») в тесте «обонятельной габитуации/дисгабитуации» на фоне введения фабототизола была сходной с поведением мышей группы «Контроль». Однако фабототизол ускорял угашение реакции на нейтральный запах, что выразилось в уменьшении длительности ($3,0 \pm 1,6$ vs $10,8 \pm 4,1$, $p < 0,1$) и числа контактов ($2,3 \pm 0,8$ vs $6,1 \pm 0,9$, $p < 0,05$) с ним при 3-м предъявлении относительно 1-го.

Таким образом, на фенотипической (идиопатической) модели РАС – мышах линии BALB/c, показано, что фабототизол в дозе 10 мг/кг улучшает социальное взаимодействие, уменьшает когнитивную ригидность: улучшает пространственную память и переобучение в тесте «Т-образный лабиринт с пищевым подкреплением», восстанавливает воспроизведение навыка при реверсивном обучении в тесте «водный лабиринт Морриса»; оказывает облегчающее влияние на когнитивные функции в стрессовых условиях, ускоряет процесс привыкания к новой обстановке, в том числе, за счет снижения тревожности.

Изучение влияния фабототизола на особенности развития мышей линии BALB/c с ФВС на раннем постнатальном этапе (P6-14).

Масса тела самцов и самок мышей с ФВС на P6 и P7 была меньше показателей животных контрольных групп, (σ : $3,5 \pm 0,1$ vs $4,0 \pm 0,1$, $p < 0,05$; ♀ : $3,7 \pm 0,1$ vs $4,4 \pm 0,2$, $p < 0,05$), однако с P7 по P14 относительно P6 у животных обоих полов группы «ВПК» отмечалось превышение прироста массы тела (рис. 5). Фабототизол (10 мг/кг внутрь с P7) нормализовал скорость набора веса (vs «ВПК») как у самцов, так и у самок мышей с ФВС (рис. 5).

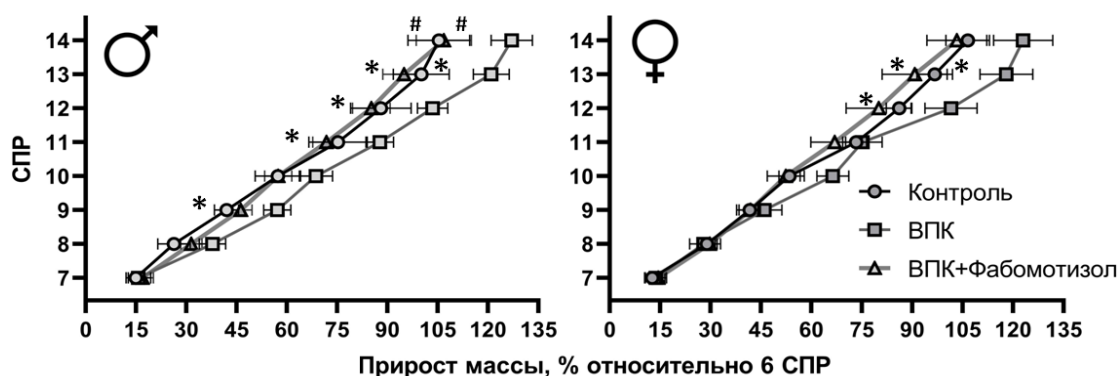


Рисунок 5 – Влияние фабототизола на прирост массы тела у мышей BALB/c с ФВС, Mean±SEM. * (#) – $p < 0,05$ (0,09) по сравнению с группой «ВПК». СПР – сутки постнатального развития.

У самцов мышей группы «ВПК» отмечалось отставание сроков прозревания глаз, что выразилось в уменьшении на 23,7% ($p = 0,09$) и 13,5% ($p < 0,05$) числа открытых глаз на P13 и P14, соответственно, по сравнению с показателями контрольной группы. Фабототизол не оказал влияния на задержку сроков прозревания у самцов мышей с ФВС. Сроки открытия глаз у самок мышей BALB/c с ФВС не отличались от показателей группы «Контроль».

Пренатальное введение ВПК самцам мышей замедляло выполнение переворота на поверхности со спины только на P6 по сравнению с контрольными мышами ($9,6 \pm 2,6$ и $10,8 \pm 2,6$ vs $6,6 \pm 0,7$, $p < 0,05$). У самок мышей с ФВС отличий относительно группы «Контроль» не зарегистрировано.

В тесте «отрицательный геотаксис» самцам группы «ВПК» на P12 требовалось больше времени для поворота головой вверх по наклонной сетке чем мышам группы «Контроль» ($10,3 \pm 1,5$ vs $6,5 \pm 0,9$, $p < 0,05$). Фабомотизол увеличил в 1,9 раза скорость выполнения рефлекса у самцов с ФВС на P12 относительно самцов группы «ВПК» ($5,3 \pm 1,0$ vs $10,3 \pm 1,5$, $p < 0,05$). У самок мышей группы «ВПК» на P7 и P12 скорость поворота тела в тесте «отрицательный геотаксис» была в 1,2 и 1,4 раза незначительно меньше по сравнению с контрольными животными; но на фоне фабомотизола – превышала показатели группы «ВПК» (P7: $16,9 \pm 1,9$ vs $21,5 \pm 1,8$, $p < 0,09$; P12: $8,1 \pm 0,8$ vs $11,3 \pm 1,6$, $p < 0,09$).

Самцы мышей с ФВС демонстрировали значимое ухудшение координации движений в тесте «переворот в воздухе», что выразилось на P14 в уменьшении числа животных успешно выполнивших все попытки (на 27,0%, $p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Показатели самцов группы «ВПК+Фабомотизол», во все дни тестирования (P10-P14) не отличались от значений группы «Контроль». У самок мышей с ФВС выявлено замедление формирования рефлекса, что выразилось в значимом снижении на 38,0 и 32,0% на P13 и P14, соответственно, числа животных, успешно выполнивших все 3 попытки. При этом у самок мышей группы «ВПК+Фабомотизол» отмечалось превышение числа мышей, успешно выполнивших перевороты в воздухе, на 46,0, 37,0 и 31,0% на P12-P14, соответственно, по сравнению с группой «ВПК».

У самцов и самок мышей BALB/c, пренатально получавших ВПК, выявлено снижение мышечной силы в тесте «веревочка»: продолжительность удерживания на веревочке на P14 была в 1,6 раза меньше по сравнению с группой «Контроль» (σ : $12,9 \pm 1,5$ vs $20,8 \pm 3,1$; ♀ : $12,5 \pm 1,3$ vs $18,3 \pm 2,6$, $p < 0,05$). Фабомотизол не оказал влияния на данное нарушение у мышей с ФВС.

В тесте «вздрагивание на хлопок» у самцов и самок мышей групп «ВПК» относительно значений контрольной группы наблюдалось полное отсутствие реакции на P11 ($p < 0,05$) и ее снижение у самцов на P12 ($p < 0,05$) (табл. 5). Фабомотизол предотвращал снижение скорости формирования рефлекса, как у самцов, так и у самок с ФВС, что выразилось в отсутствии различий с показателями контрольной группы.

У самцов и самок мышей линии BALB/c с ФВС отмечалось ухудшение формирования ушного рефлекса в сравнении с показателями контрольных групп, а на фоне фабомотизола отмечалось его восстановление: число реакций на стимул у самцов было больше на P10-P12, а у самок – на P10 в сравнении с группами «ВПК» (табл. 5).

В тесте «предпочтение материнского запаха» самцы мышей BALB/c групп «Контроль» и

«ВПК» различий в выборе материнского и чужого запахов не демонстрировали; в отличие от мышей группы «ВПК+Фабомотизол» которые в 9,6 раза больше времени проводили в зоне с опилками из «домашней» клетки, в сравнении с зоной с опилками из «чужой» клетки (рис. 6). Самки групп «Контроль» и «ВПК+ Фабомотизол» оказывали явное предпочтение материнскому запаху, проводя в зоне с опилками из «домашней клетки» в 2 и 3 раз больше времени, соответственно, относительно группы «ВПК» (рис.6).

Таблица 5 – Влияние фабомотизола на скорость формирования рефлексов у мышей BALB/c с ФВС, Mean±SEM

Группа/ параметр	«Вздрагивание на хлопок», балл			Реакция на прикосновение к уху, балл		
	P11	P12	P13	P10	P11	P12
Самцы						
Контроль, n=12	0,2±0,1	0,8±0,1	0,9±0,1	0,6±0,2	0,8±0,1	0,9±0,1
ВПК, n=15	0,0±0,0*	0,5±0,1*	0,8±0,1	0,0±0,0*	0,3±0,1*	0,7±0,1
ВПК+Фабомотизол, n=14	0,0±0,0	0,6±0,2	0,9±0,1	0,5±0,2#	0,7±0,1#	1,0±0,0#
Фабомотизол, n=8	0,0±0,0	0,5±0,2	0,8±0,2	0,5±0,2	1,0±0,0	1,0±0,0
Самки						
Контроль, n=15	0,2±0,1	0,6±0,1	0,9±0,1	0,3±0,1	0,5±0,1	0,9±0,1
ВПК, n=24	0,0±0,0*	0,5±0,1	0,8±0,1	0,1±0,1*	0,4±0,1	0,8±0,1
ВПК+Фабомотизол, n=20	0,2±0,1	0,5±0,1	0,9±0,1	0,5±0,1#	0,6±0,1	0,9±0,1
Фабомотизол, n=9	0,0±0,0	0,3±0,2	0,8±0,2	0,7±0,2	1,0±0,0	1,0±0,0

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # - $p < 0,05$ по сравнению с группой «ВПК».

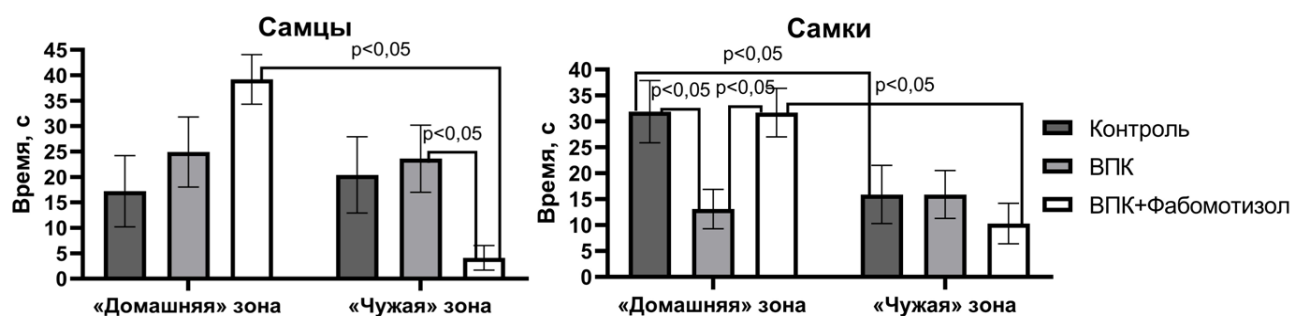


Рисунок 6 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «предпочтение материнского запаха» на P14, Mean±SEM

Таким образом, фабомотизол на модели ФВС улучшает показатели физического и неврологического развития, а также социальное взаимодействие в раннем постнатальном периоде у мышей линии BALB/c.

Изучение влияния фабомотизола на появления РАС у мышей линии BALB/c с ФВС в раннем пубертатном периоде (P31-41).

В тесте «закрытый крестообразный лабиринт» (ЗКЛ) поведение самцов группы «ВПК» отличалось повышенной тревожностью, что выразилось в увеличении в 2,7 раза ($p < 0,09$) времени первого захода в один из рукавов лабиринта из стартовой центральной площадки (vs «Контроль»). Фабомотизол (10 мг/кг внутрь с P7) не оказал значимого влияния на когнитивные функции самцов мышей с ФВС в тесте ЗКЛ по сравнению с группой «ВПК», однако снизил тревожность, что выразилось в уменьшении латентного периода первого выбора, длительности пребывания в первом посещенном рукаве и продолжительности выполнения 13 заходов в рукава лабиринта, и оказал незначимое влияние на стереотипию, уменьшив в 1,7 раза число

возвращений в только что посещенный рукав. Самки мышей BALB/c групп «Контроль», «ВПК» и «ВПК+Фабомотизол» не имели различий по оцениваемым в тесте показателям (табл. 6). Фабомотизол улучшил эффективность патрулирования и уменьшил проявления стереотипии у мышей BALB/c без ФВС (табл. 6).

Таблица 6 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «закрытый крестообразный лабиринт» на P31, Mean±SEM

Параметр / группа		Контроль	ВПК	ВПК +Фабомотизол	Фабомотизол
Самцы, n=10-15	Длина 1-го патрулирования (N), ед.	10,9±0,9	10,3±0,9	9,3±1,2	8,6±1,0
	Эффективность патрулирования (4/N)	0,39±0,04	0,41±0,04	0,46±0,05	0,51±0,06*
	Число патрулирований, ед.	0,9±0,3	0,8±0,2	1,2±0,4	1,1±0,3
	Время первого выбора, с	16,0±3,0	43,0±12,5 p<0,09*	18,2±5,3 p<0,09#	20,5±6,4
	Время в первом рукаве, с	43,2±16,0	33,0±15,0	10,0±1,6#	5,8±2,6*
	Возвращения в тот же рукав, ед.	4,3±1,1	5,7±1,3	3,3±1,4	1,6±0,5*
	Возвращения в первый рукав, ед.	5,6±1,2	6,3±1,2	4,8±0,9	2,7±0,4*
	Длительность выполнения теста, с	372,2±24,3	424,7±60,7	283,5±47,3 p<0,08#	274,6±62,0
Самки, n=10-15	Длина 1-го патрулирования (N), ед.	11,1±0,9	11,1±0,7	11,4±1,0	7,0±1,1*
	Эффективность патрулирования (4/N)	0,40±0,05	0,40±0,04	0,39±0,06	0,63±0,09*
	Число патрулирований, ед.	0,6±0,3	0,5±0,2	0,5±0,3	1,6±0,2*
	Время первого выбора, с	16,2±3,8	27,2±4,6	54,9±18,3*	23,8±3,5
	Время в первом рукаве, с	54,2±32,2	29,0±9,8	20,9±9,2	29,5±19,4
	Возвращения в тот же рукав, ед.	5,7±1,2	5,1±0,8	4,1±0,8	1,4±0,5*
	Возвращения в первый рукав, ед.	4,4±1,2	5,0±0,9	4,9±0,9	4,0±0,8
	Длительность выполнения теста, с	371,1±51,6	368,3±38,3	493,4±89,7	285,1±61,9

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с группой «Контроль»; # - p<0,05 по сравнению с группой «ВПК». N – число заходов в рукава при выполнении одного патрулирования.

Поведение самцов мышей BALB/c с ФВС в тесте «квадратное открытое поле» отличалось от показателей группы «Контроль» только большей продолжительностью груминга (35,3±5,4 vs 19,3±3,9, p<0,05), которую снизил фабомотизол (35,3±5,4 vs 22,5±3,0, p<0,05). У самок мышей BALB/c с ФВС, помимо длительного груминга (25,7±3,1 vs 17,2±3,8, p<0,09), отмечалась гиперактивность, выразившаяся в росте горизонтальной (144,2±13,0 vs 118,7±20,1) и на вертикальной (40,4±8,0 vs 21,4±6,6, p<0,09) активностей по сравнению с показателями самок контрольной группы. Фабомотизол у самок с ФВС уменьшил число эпизодов груминга (3,5±0,9 vs 7,2±0,9, p<0,05) и его продолжительность (17,3±3,5 vs 25,7±3,1, p<0,09) по сравнению с группой «ВПК», что свидетельствует об уменьшении стереотипии и тревожности, и нормализовал двигательную активность, приближая её показатели к контрольным значениям.

В тесте «перегородка» реакции у самцов мышей BALB/c всех групп на знакомую мышь не отличались. Замена стимульной мыши на незнакомую вызвала рост продолжительности нахождения у перегородки самцов мышей групп «Контроль», «ВПК+Фабомотизол», «Фабомотизол». При этом наибольший коэффициент предпочтения незнакомой мыши отмечался в группе «ВПК+Фабомотизол» (табл. 7). У самок мышей BALB/c группы «ВПК» различий по числу подходов к перегородке, отделяющей как от знакомой, так и незнакомой мыши в сравнении с группой «Контроль» не обнаружено, в отличие от самок группы «ВПК+Фабомотизол», которые чаще контактировали с незнакомым социальным объектом. При этом у самок с ФВС в обоих условиях наблюдения отмечался социальный дефицит,

выразившийся в снижении длительности контактов с перегородкой, по сравнению с группой «Контроль» (табл. 7).

В тесте «автогруминг», позволяющим оценить стереотипное поведение животных в привычной нестрессорной обстановке, у самцов мышей BALB/c с ФВС регистрировалось увеличение продолжительности груминга относительно группы «Контроль» ($36,4 \pm 5,7$ vs $20,9 \pm 3,2$, $p < 0,05$). Фабомотизол предотвращал повышение числа эпизодов груминга ($5,7 \pm 1,0$ vs $8,8 \pm 1,4$, $p < 0,05$) и его продолжительности ($20,3 \pm 2,9$ vs $36,4 \pm 5,7$, $p < 0,05$) у самцов мышей с ФВС по сравнению с группой «ВПК». У самок мышей BALB/c с ФВС длительность груминга была выше, чем в контрольной группе ($28,7 \pm 4,0$ vs $17,6 \pm 2,5$, $p < 0,05$), и не корректировалась фабомотизолом. Введение фабомотизола самцам и самкам мышей с ФВС вызывало снижение вертикальной (σ : $43,6 \pm 13,1$ vs $64,6 \pm 9,4$; ϕ : $38,1 \pm 7,4$ vs $56,9 \pm 5,4$, $p < 0,05$) и горизонтальной (σ : $111,1 \pm 14,7$ vs $154,0 \pm 16,3$, $p < 0,05$; ϕ : $110,9 \pm 18,0$ vs $139,9 \pm 6,8$, $p < 0,05$) активностей в сравнении с группой «ВПК».

Таблица 7 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «перегородка» на P39, Mean \pm SEM

Группа/ параметр		Число контактов, ед		Длительность контакта, с		К, %
		Знакомая мышь	Незнакомая мышь	Знакомая мышь	Незнакомая мышь	
Самцы	Контроль, n=10	14,5 \pm 0,9	13,8 \pm 1,0	99,1 \pm 10,5	139,8 \pm 11,6&	58,5
	ВПК, n=10	13,7 \pm 1,1	16,2 \pm 1,3	102,9 \pm 7,1	130,1 \pm 12,9	55,8
	ВПК + Фабомотизол, n=8	16,9 \pm 1,0#	15,4 \pm 0,6	91,5 \pm 13,2	153,7 \pm 14,9&	62,7
	Фабомотизол, n=8	14,4 \pm 1,3	15,3 \pm 0,9	92,1 \pm 10,0	150,5 \pm 16,3&	62,0
Самки	Контроль, n=12	13,4 \pm 0,9	13,3 \pm 0,8	101,6 \pm 9,9	159,1 \pm 9,9&	61,0
	ВПК, n=12	13,9 \pm 0,6	14,1 \pm 1,0	79,0 \pm 4,4 $p < 0,07^*$	127,4 \pm 8,3*&	61,7
	ВПК+Фабомотизол, n=12	11,5 \pm 1,2	16,0 \pm 0,9*&	66,6 \pm 8,2*	120,3 \pm 10,8*&	64,4
	Фабомотизол, n=8	16,8 \pm 0,8*	16,4 \pm 0,9*	98,4 \pm 9,5	152,4 \pm 13,2&	60,7

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # - $p < 0,05$ по сравнению с группой «ВПК»; & - $p < 0,05$ при внутригрупповом сравнении с показателем, полученным при контакте со знакомой мышью; К (коэффициент предпочтения) = длительность контакта с незнакомой мышью / сумма длительностей контактов с незнакомой и знакомой мышью $\times 100\%$.

Таким образом, полученные данные о влиянии фабомотизола на поведение мышей линии BALB/c с ФВС в ранне-пубертатном периоде (P32-P42) указывают на его способность уменьшать тревожность, стереотипные проявления, снижать гиперактивность, улучшать реакцию на социальную новизну, выраженные в разной степени у самцов и самок.

Изучение влияния фабомотизола появления РАС у мышей линии BALB/c с ФВС в пубертатном и взрослом молодом периоде (P47-64).

При обучении пространственному навыку в течение 3-х дней в тесте «водный лабиринт Морриса» не выявлено положительной динамики у самцов и самок мышей линии BALB/c с ФВС относительно группы «Контроль». Фабомотизол (10 мг/кг внутрь с P7) не улучшал обучения самцов мышей BALB/c с ФВС, но увеличил число успешных попыток поиска платформы в 1-й день у самок по сравнению с группой «ВПК» ($0,9 \pm 0,3$ vs $0,2 \pm 0,1$, $p < 0,05$). Обучение пространственному навыку у самцов и самок мышей BALB/c без патологии на фоне фабомотизола было сравнимо с показателями групп «Контроль».

В тесте «социальное взаимодействие» у самцов мышей BALB/c с ФВС отмечалось снижение длительности контактов с социальным объектом по сравнению с группой «Контроль», при этом животные группы «ВПК» при равной двигательной активности с другими группами, большую часть времени наблюдения проводили в центральном отсеке, что указывает на наличие тревожности. Поведение самцов мышей с ФВС, получавших фабомотизол, не отличалось от показателей группы «Контроль» (табл. 8).

Таблица 8 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «социальное взаимодействие» на P53, Mean±SEM

Группа/ параметр		Число заходов в отсек, ед.		Число контактов, ед.		Длительность нахождения в отсеке, с			Длительность контакта, с	
		с СО	с НО	с СО	с НО	центр	с СО	с НО	с СО	с НО
Самцы	Контроль, n=8	9,0±1,0	8,4±0,6	15,8±1,0	22,8±1,9	119,5± 12,5	236,2± 15,3	243,5± 15,5	141,4±19,7	130,0±10,0
	ВПК, n=8-	9,3±1,0	9,7±1,5	17,5±2,2	16,0±1,2 *	216,0± 27,7*	194,2± 24,0	188,9± 20,7	110,6±20,6 *	85,6±11,0 *
	ВПК+Ф, n=8	8,4±1,8	9,1±1,1	17,0±2,4	19,6±1,4 p<0,09#	112,0± 10,6#	221,5± 23,9	266,2± 30,5#	125,1±12,0	127,0±11,6 #
Самки	Контроль, n=8	7,0±0,5	6,8±1,1	18,1±2,0	17,6±2,5	124,0± 26,4	245,8± 36,4	224,5± 26,8	142,5±14,2	120,7±11,4
	ВПК, n=9	8,4±1,0	9,7±1,4	12,7±1,3 *	19,2±1,4 &	160,5± 28,4	157,6± 20,1*	266,1± 30,0&	96,4±8,9 *	139,2±18,1 &
	ВПК+Ф, n=8	5,9±0,5 #	5,6±0,8 #	15,3±2,5	14,0±1,0 #	109,9± 19,0	259,7± 22,8#	230,0± 13,1	149,3±16,2 #	113,6±6,9 p<0,09&

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с группой «Контроль», # - p<0,05 по сравнению с группой «ВПК»; & - p<0,05 - по сравнению с аналогичным показателем с «СО» той же группы; Ф – фабомотизол, НО – несоциальный объект, СО – социальный объект.

Социальный дефицит был более выражен у самок мышей BALB/c с ФВС, что выразилось в уменьшении длительности нахождения в отсеке с социальным объектом, числа и длительности контактов с ним как относительно показателей группы «Контроль», так и данных, регистрируемых в отсеке с несоциальным объектом (внутригрупповое сравнение). Фабомотизол нормализовал поведение самок BALB/c с ФВС в тесте «социального взаимодействия», что выразилось в отсутствии различий с показателями контрольной группы, а также в увеличении на 64,8% длительности нахождения в отсеке с социальным объектом и на 54,8% времени контакта с ним по сравнению с группой «ВПК» (табл. 8).

Оценка поведения самцов BALB/c с ФВС в тесте «социальное узнавание» выявило уменьшение длительности их контакта со знакомой и незнакомой стимульными мышами относительно показателей групп «Контроль» и «ВПК+Фабомотизол». При этом различий между длительностями контактов с незнакомой и знакомой мышами у самцов с ФВС не было, тогда как в группах «Контроль» и «ВПК+Фабомотизол» животные на 58,2 % и 54,8%, соответственно, дольше взаимодействовали с незнакомой мышью (рис. 7). Фабомотизол уменьшал длительность нахождения в центре установки самцов мышей с ФВС относительно группы «ВПК» (151,4±8,8 vs 224,2±28,3, p<0,05) до контрольных значений (169,0±25,7 с).

Самки BALB/c групп «Контроль» и «ВПК+Фабомотизол» не оказывали предпочтения какому-либо из объектов в тесте «социальное узнавание» в отличие от самок группы «ВПК»,

проводивших в отсеке с новой мышью значительно больше времени, чаще и дольше контактировавших с ней, чем со знакомой мышью.

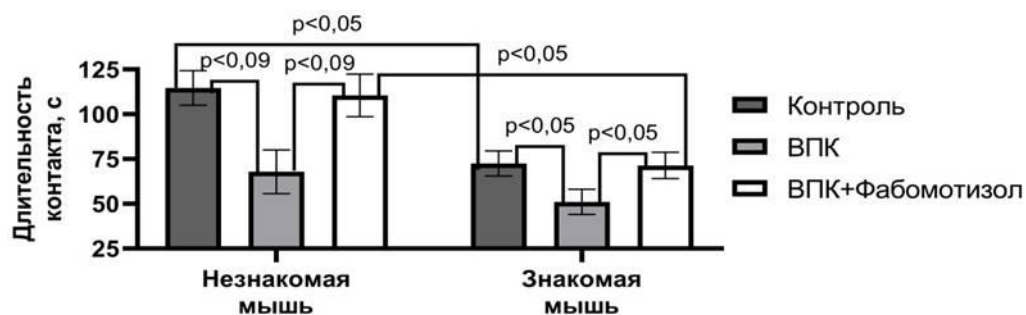


Рисунок 7 – Влияние фабомотизола на длительность контактов со стимульными мышами у самцов мышей BALB/c с ФВС в тесте «социальное узнавание» на P54, Mean+SEM.

В тесте «закапывание шариков» самцы мышей линии BALB/c демонстрировали снижение поведенческой активности на протяжении всего времени наблюдения (1 час), что усугублялось на фоне введения ВПК: первые закопанные шарики появились только через 15-20 мин после начала тестирования, а к 55 мин их число не превышало 3 – в 2 раза меньше, чем в группе «Контроль». Подобное поведение мышей BALB/c с ФВС возможно связано с их повышенной тревожностью и с нарушением оборонительного поведения. Фабомотизол нормализовал поведение животных с ФВС, направленное на избавление от беспокоящего объекта, что проявлялось в увеличении числа закопанных шариков в сравнении с показателями мышей группы «ВПК» (рис. 8).

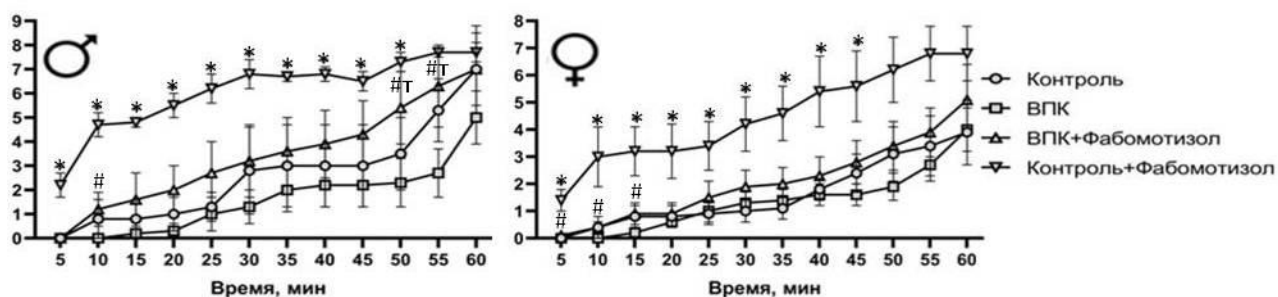


Рисунок 8 – Влияние фабомотизола на поведение мышей линии BALB/c с ФВС в тесте «закапывание шариков» на P58, Mean ± SEM, * – $p<0,05$ по сравнению с группой «Контроль», # (т) – $p<0,05$ (0,09) по сравнению с группой «ВПК».

Поведение самок мышей BALB/c групп «Контроль» и «ВПК» характеризовалось низкой активностью: число закопанных шариков через 1 час после их предъявления достигало всего 50%. Фабомотизол повышал число закопанных шариков самками мышей с ФВС на протяжении всего опыта по сравнению с группой «ВПК», что было статистически значимым в ходе первых 15 мин наблюдения. Введение фабомотизола мышам BALB/c без ФВС приводило к росту числа закопанных шариков у самцов и самок по сравнению с показателями групп «Контроль» (рис. 8).

В тесте «построение гнезда» мыши с ФВС, независимо от пола, демонстрировали снижение поведенческой активности, направленной на обеспечение терморегуляции и процессов размножения, что выразилось в снижении числа полностью построенных гнезд на 39.5% у самцов и на 31.9% у самок, в отличие от мышей групп «Контроль» (табл. 9). Самцы и

самки мышей с ФВС, получавшие фабомотизол, строили идеальное гнездо (кратер со стенами).

Таблица 9 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «построение гнезда» на P57, Mean ± SEM

Пол/группа	Контроль, n=8	ВПК (♂n=8, ♀ n=9)	ВПК+ Фабомотизол, n=8	Фабомотизол, n=8
Самцы	4,8±0,2	3,8±0,5 *	5,0±0,0 #	4,9±0,1
Самки	4,9±0,1	4,4±0,2 *	5,0±0,0 #	5,0±0,0

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», # - $p < 0,05$ по сравнению с группой «ВПК».

В тесте «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом» поведение самцов мышей BALB/c групп «ВПК» и «Контроль» не отличалось. Фабомотизол улучшал оборонительное поведение самцов с ФВС: увеличивал в 2,7 раза латентное время 1-го подхода к источнику аверсивного запаха хищника, уменьшал в 1,3 и 1,6 раз число заходов в рукав с запахом и продолжительность контакта с ним, соответственно, в сравнении с мышами с ФВС (табл. 10). Самки мышей BALB/c с ФВС проводили в 1,6 раза больше времени около источника аверсивного запаха по сравнению с контрольной группой. Введение фабомотизола самкам с ФВС уменьшало число заходов в рукав с запахом хищника, длительность нахождения в нем, а также, число и длительности контакта с источником запаха (табл. 10).

Введение фабомотизола мышам BALB/c без ФВС способствовало улучшению оборонительного поведения животных в тесте «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом» по сравнению с показателями контрольной группы.

Таблица 10 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом» на P62, Mean ± SEM

Группа/ параметр		ЛП контакта с запахом, с	Число заходов, ед		Число контактов с запахом, ед	Длительность, с	
			в рукав с запахом	в другие рукава		в рукаве с запахом	контакта с запахом
Самцы	Контроль n=10	13,3±6,4	10,3±1,3	16,3±2,2	10,8±1,0	105,5±9,6	27,5±8,4
	ВПК, n=9	19,1±3,7	9,0±0,7	14,5±1,1	11,2±0,8	115,0±7,8	30,0±3,8
	ВПК + Фабомотизол, n=8	27,5±1,9 $p < 0,08^{*#}$	6,9±0,8 $p < 0,08^{#}$	13,9±1,3	8,9±1,1	104,9±10,2	18,7±2,7 [#]
	Фабомотизол, n=8	109,0±30,5 [*]	6,0±1,0 [*]	12,8±1,8	4,7±0,7 [*]	87,0±6,1	16,1±3,4
Самки	Контроль n=8	16,4±4,3	8,1±0,9	15,6±1,6	10,4±1,2	108,8±6,3	30,1±3,6
	ВПК, n=9	17,8±2,6	8,4±0,7	15,2±1,7	12,8±1,3	120,3±11,7	48,5±6,5 [*]
	ВПК + Фабомотизол, n=8	22,8±2,4	5,3±0,9 [#]	13,3±2,0	9,1±0,7 [#]	91,3±8,1 [#]	29,4±3,1 [#]
	Фабомотизол, n=8	85,9±17,7 [*]	6,8±1,2	11,0±1,7	5,4±1,4 [*]	115,0±8,5	14,6±5,3 [*]

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», # - $p < 0,05$ по сравнению с группой «ВПК».

Таким образом, фабомотизол (10 мг/кг, ежедневно, внутрь), вводимый с раннего постнатального периода (P7) до периода половой зрелости (P62), обладает способностью улучшать видовую активность у представителей обоих полов, направленную как на обеспечение терморегуляции и процессов размножения (строительство идеального гнезда), так и на оборонительное поведение (избегание запаха хищника), и ослаблять большинство нарушений социального поведения, выявленных у мышей BALB/c с ФВС, что выразилось как в улучшении регистрируемых показателей (более выражено у самок), так и в отсутствии отличий от показателей группы «Контроль» в тесте «Социальное взаимодействие», в повышении реакции самцов мышей BALB/c с ФВС на новизну до контрольных значений.

Изучение влияния фабомотизола на изменения уровней моноаминов у мышей линии BALB/c с ФВС на разных сроках их постнатального развития.

Раздел выполнен совместно с лабораторией нейрхимической фармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (заведующий лабораторией к.м.н. Кудрин В.С.).

Оценка уровня моноаминов в структурах мозга мышей, пренатально получавших ВПК, выявила наличие выраженных изменений в стриатуме и гипоталамусе при точечных отклонениях в других исследуемых структурах. Так, в стриатуме мышей линии BALB/c с ФВС на P15 отмечались низкие показатели NA, DA, DOPAC, HVA, а на P64 – превышение содержания NA, DOPAC, HVA, 5-НТ, 5-НИАА и 5-НИАА/5-НТ в сравнении с животными без патологии соответствующего возраста (рис. 9); и в гипоталамусе – снижение DOPAC ($p < 0,08$) и повышение соотношения 5-НИАА/5-НТ на P15, и повышение содержания NA, DA ($p < 0,06$) и DOPAC, 5-НТ, 5-НИАА и 5-НИАА/5-НТ ($p < 0,06$) на P64.

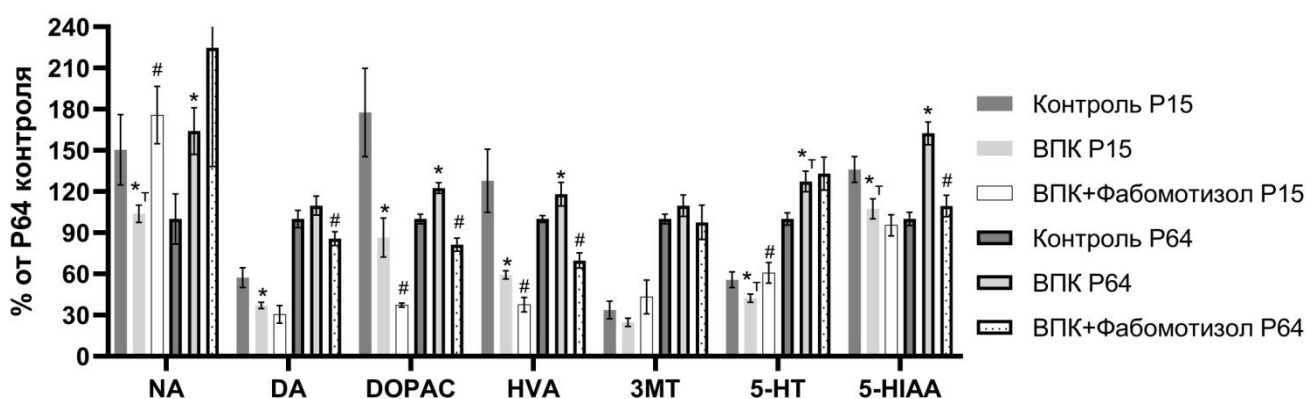


Рисунок 9 – Влияние фабомотизола на содержание моноаминов и их метаболитов в стриатуме мышей линии BALB/C с ФВС, Mean ± SEM, * (*_T) – $p < 0,05$ (0,07) по сравнению с группой «Контроль» того же возраста, # – $p < 0,05$ по сравнению с группой «ВПК» того же возраста.

Полученные результаты свидетельствуют о разнонаправленности процессов связанных с оборотом нейротрансмиттеров у мышей без патологии и с PAC: высокие уровни NA, DOPAC, HVA, и 5-НИАА в группе «Контроль» на P15 снижаются к P64, а изначально низкий уровень моноаминов и их метаболитов в группе «ВПК» значительно возрастает к P64.

На фоне введения фабомотизола (10 мг/кг внутрь ежедневно с P7) самцам мышей BALB/c с экспериментальным PAC на P15 отмечалось повышение уровней NA и 5-НТ, а к P64 наблюдалась нормализация показателей дофаминергической и серотонинергической нейротрансмиссии, выразившаяся в значимом снижении содержания DA, DOPAC, HVA, DOPAC/DA, HVA/DA, 5-НИАА и 5-НИАА/5-НТ в стриатуме относительно группы, получавшей ВПК, и отсутствие различий с контрольной группой по уровням концентрации DA, 3-МТ, DOPAC/DA и 5-НТ на P64.

ВЫВОДЫ

1. Мыши линии BALB/c являются идиопатической моделью расстройств аутистического спектра, пригодной для изучения патогенеза заболевания и для оценки возможных средств коррекции PAC, что подтверждается наличием таких фенотипических особенностей поведения,

как низкий уровень взаимодействия с социально значимыми стимулами, нарушение распознавания и, особенно, узнавания запахов, усиление тревожного и стереотипного поведения, когнитивной ригидности.

2. На фенотипической модели расстройств аутистического спектра, мышях линии BALB/c, фабомотизол в дозе 10 мг/кг улучшает социальное взаимодействие, уменьшает когнитивную ригидность, оказывает облегчающее влияние на когнитивные функции в стрессовых условиях, ускоряет процесс привыкания к новой обстановке, в том числе за счет снижения тревожности.

3. У мышей линии BALB/c с ФВС, вызванным введением вальпроата натрия в дозе 400 мг/кг, в гнездовом периоде отмечается задержка физического и неврологического развития, и уменьшение способности к социальному распознаванию. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь ежедневно с 7 по 14 дни жизни) оказывает корригирующее влияние на развитие и поведение мышей линии BALB/c с ФВС в перинатальном периоде (7-14 дни постнатального развития).

4. Мыши линии BALB/c с ФВС в ранне-пубертатном периоде (32-42 дни постнатального развития), отличаются повышенной тревожностью и стереотипным поведением. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь ежедневно с 7 по 42 дни жизни) уменьшает тревожность и стереотипные проявления, снижает гиперактивность, увеличивает реакцию на социальную новизну у мышей линии BALB/c с ФВС в ранне-пубертатном периоде, что более выражено у самцов.

5. Мыши линии BALB/c с ФВС в пубертатном и молодом взрослом возрасте (47-62 дни постнатального развития) характеризуются снижением социального взаимодействия и предпочтения социальной новизны, нарушением типично-видового поведения, такого как гнездование, оборонительное поведение, а также выраженным когнитивным дефицитом и повышенной тревожностью. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь ежедневно с 7 по 62 дни жизни) нивелирует большинство обусловленных ФВС нарушений социального поведения, улучшает проявления видовой активности, облегчает когнитивный дефицит и уменьшает тревожность у мышей линии BALB/c с ФВС в пубертатном и молодом взрослом возрасте.

6. У мышей линии BALB/c с ФВС выявлено нарушение возрастной динамики оборота норадреналина, дофамина, серотонина в ЦНС с 15 по 64 день постнатального развития: изначально низкий уровень регистрируемых моноаминов и их метаболитов значительно возрастает, превышая контрольные значения к 64 дню жизни.

7. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь с 7 по 64 дни жизни) на модели ФВС к 64 дню постнатального развития нормализует показатели дофаминергической и серотонинергической нейротрансмиссии у мышей линии BALB/c.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности расширенного изучения фабомотизола (5-этоксифен-2-[2-(морфолино)этилтио]-бензимидазола дигидрохлорида) в качестве потенциального препарата для коррекции расстройств аутистического спектра.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в рецензируемых научных изданиях:

1. Капица, И.Г. Афобазол ослабляет когнитивную ригидность в экспериментальной модели расстройств аутистического спектра / И.Г. Капица, А.П. Калинина, **А.А. Алымов**, Т.А. Воронина, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 168. – № 8. – С. 191-194.
2. Кудрин, В.С. Динамика формирования нарушений моноаминергических систем мозга потомства мышей линии BALB/c при введении вальпроата натрия беременным самкам: нейрохимическое изучение / В.С. Кудрин, В.Б. Наркевич, **А.А. Алымов**, И.Г. Капица, К.А. Касабов, Н.В. Кудряшов, В.Г. Коньков, Т.А. Воронина // Нейрохимия. – 2021. – Т. 38. – № 1. – С. 52-58.
3. Капица, И.Г. Влияние афобазола на изменения в раннем постнатальном периоде у мышей линии BALB/c с фетальным вальпроатным синдромом / И.Г. Капица, **А.А. Алымов**, Т.А. Воронина, С.Б. Середенин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2021. – Т. 65. – № 1. – С. 12-21.
4. **Алымов, А.А.** Нейрохимические механизмы патогенеза и фармакологическая коррекция расстройств аутистического спектра: современные представления и перспективы / **А.А. Алымов**, И.Г. Капица, Т.А. Воронина // Нейрохимия. – 2021. – Т. 38. – № 2. – С. 127-138.
5. **Алымов, А.А.** Поведенческие эффекты афобазола при экспериментальном моделировании расстройства аутистического спектра / **А.А. Алымов**, И.Г. Капица, Т.А. Воронина // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 2022. – Т. 108. – № 2. – С. 170-182.

Тезисы:

1. **Алымов, А.А.** Влияние афобазола на поведение мышей линии BALB/c с ФВС при предъявлении запаха хищника / **А.А. Алымов**, И.Г. Капица, Т.А. Воронина // II научная конференция молодых ученых «Актуальные исследования в фармакологии». Материалы конференции. – 2021. – С. 193-194.
2. Коньков, В.Г. Нейрохимическое изучение динамики формирования нарушений моноаминергических систем мозга на разных стадиях постнатального развития в условиях моделирования расстройств аутистического спектра, индуцированных введением вальпроата натрия мышам линии BALB/c / В.Г. Коньков, К.А. Касабов, В.Б. Наркевич, **А.А. Алымов**, И.Г. Капица, В.С. Кудрин, Т.А. Воронина // II научная конференция молодых ученых «Актуальные исследования в фармакологии». Материалы конференции. – 2021. – С. 109-110.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВПК – натриевая соль вальпроевой кислоты	5-Н1АА – 5-окси(гидрокси)индолуксусная кислота
ГАМК – гамма-аминомасляная кислота	5-НТ – серотонин
МНН – международное непатентованное название	ДА – дофамин
РАС – расстройства аутистического спектра	ДОРАС – 3,4-диокси(гидрокси)-фенилуксусная кислота
ФВС – фетальный вальпроатный синдром	НВА – гомованилиновая кислота
ЗМТ – 3-метилтирамин	НА – норадреналин