

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

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

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Капица Инга Геннадиевна

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	10
1.1. Современные представления о расстройствах аутистического спектра	10
1.2. Нейрохимические изменения и патогенетическая терапия при РАС	13
1.2.1. Участие серотонинергической системы в патогенезе РАС	13
1.2.2. Участие дофаминергической системы в патогенезе РАС	14
1.2.3. Участие глутаматергической системы в патогенезе РАС	16
1.2.4. Участие ГАМК-ергической системы в патогенезе РАС	18
1.2.5. Участие холинергической системы в патогенезе РАС	19
1.2.6. Участие мелатонина в патогенезе РАС	20
1.2.7. Участие окситоцина и аргинин-вазопрессина в патогенезе РАС	20
1.2.8. Участие опиатной системы в патогенезе РАС	21
1.2.9. Роль кальция в патогенезе РАС	21
1.3. Перспективы применения лигандов сигма-1 рецепторов при РАС	23
1.4. Фармакология фабомотизола (афобазола)	24
1.5. Основные методы изучения РАС в эксперименте	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	31
2.1. Препараты	31
2.2. Животные	31
2.3. Дизайн исследования поведенческих изменений на фенотипической модели РАС	32
2.4. Дизайн исследования поведенческих изменений на модели РАС у мышей BALB/c с ФВС	32
2.5. Методы исследования	33
2.5.1. Исследование мышат линии BALB/c с ФВС в перинатальном периоде	33
2.5.2. Тест «закрытый крестообразный лабиринт»	36
2.5.3. Тест «квадратное открытое поле»	37
2.5.4. Тест «перегородка»	37
2.5.5. Тест «автогруминг»	37
2.5.6. Тест «открытое поле со сменой освещенности»	37
2.5.7. Тест «водный лабиринт Морриса»	38
2.5.8. Тесты «социальное взаимодействие» и «социальное узнавание»	38
2.5.9. Тест «построение гнезда»	39
2.5.10. Тест «закапывание шариков»	39
2.5.11. Тест «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом»	39
2.5.12. Тест «откапывание еды»	40

2.5.13. Тест «обонятельной дискриминации»	40
2.5.14. Тест «обонятельной габитуации/дисгабитуации»	40
2.5.15. Тест «обследования отверстий»	41
2.5.16. «Т-образный лабиринт с пищевым подкреплением»	42
2.5.17. Определение содержания нейротрансмиттеров в структурах головного мозга	42
2.6. Статистическая обработка	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	44
3.1. Изучение особенностей поведения мышей линии BALB/c в ряде поведенческих тестов, применяемых для оценки симптомов PAC.	44
3.2. Изучение действия фабомотизола на особенности поведения мышей линии BALB/c (фенотипическая модель PAC).	52
3.3. Изучение влияния фабомотизола на поведенческие особенности мышей линии BALB/c с ФВС на раннем этапе постнатального развития (P6-14).	61
3.4. Изучение влияния фабомотизола на поведенческие особенности мышей линии BALB/c с ФВС в раннем пубертатном периоде (P31-41).	69
3.5. Изучение влияния фабомотизола на поведенческие особенности мышей линии BALB/c с ФВС в пубертатном и взрослом молодом периоде (P47-62)	75
3.6. Изучение изменений уровней моноаминов и влияния фабомотизола на них при PAC у мышей линии BALB/c с ФВС на разных сроках их постнатального развития	86
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	96
ВЫВОДЫ	107
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	108
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	109
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	111

ВВЕДЕНИЕ

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 [2, 327]. Общемировая распространенность РАС за последние десятилетия существенно увеличилась и оценивается на уровне 0,3-2% [174, 202, 264]. 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% [32]. Вне зависимости от формы заболевания, РАС характеризуются триадой нарушений: дефицитом социальных взаимодействий, нарушением взаимной коммуникации, ограниченностью интересов с повторяющимся репертуаром поведения [243], причем первые симптомы могут быть выявлены уже в возрасте 3 месяцев [70]. Пик диагностики РАС обычно приходится на 3-7 лет, когда появляется организованная социальная среда [78]. 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 [202]. 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 [270]. 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 [227]. 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 [53].

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 [155, 227].

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 [140, 327]. 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, характеризующемся как «freezing» реакция, что нейрохимически сопровождается падением связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМК_A-рецептора [46] и длительным снижением уровня BDNF в структурах мозга [231]. Кроме того для мышей BALB/c показан исходно низкий уровень NMDA-рецепторов и связывания бензодиазепинов в гиппокампе и префронтальной коре [23]. У мышей BALB/c обнаружено снижение концентрации серотонина в мозге, увеличение объема и массы головного мозга, недоразвитость крупных структур белого вещества мозга [60, 79], уменьшение лобных и теменно-височных долей [120].

На основе исследований, проведенных ранее в лаборатории психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», внедрена модель фетального валпроатного синдрома (ФВС) у крыс линии Вистар и разработаны методические подходы для исследования нарушений, характерных для РАС [18, 19].

Перспективным направлением коррекции нарушений при РАС может оказаться применение лигандов сигма-1 рецепторов. Сигма-1 рецептор функционирует как белок-шаперон [158] и выступает в качестве универсального регулятора внутри- и внеклеточных функций в условиях клеточного стресса, способствует реализации адаптационных реакций на клеточном и системном уровнях [249]. Сигма-1 рецепторы локализуются в высоких концентрациях в структурах головного мозга, ответственных за память, эмоции, сенсорное восприятие и тонкую моторику [8, 227] 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 [249].

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» разработан небензодиазепиновый

анксиолитик фабомотизол (МНН) (торговое наименование - афобазол) 5-этоксифен-2-[2-(морфолино)этилтио]-бензимидазола дигидрохлорид – агонист сигма-1 и мелатониновых MT1-рецепторов, ингибитор регуляторных сайтов хинонредуктазы-2, обратимый селективный ингибитор МАО-А [34]. При активации сигма-1 рецепторов фабомотизолом достигаются анксиолитический, нейропротекторный эффекты, улучшаются когнитивные функции [7, 29, 34, 40]. Фабомотизол обладает антистрессовым действием, уменьшает выраженность экзо- и эндогенных воздействий на организм беременных крыс и на развитие их плодов и когнитивные функции потомства [11, 141]. Показано, что фабомотизол, улучшает психофизиологическое состояние у подверженных стрессу личностей, не снижая уровень внимания, психомоторного реагирования и скорость принятия решений [5, 30]. В исследованиях, проведенных на крысах линии Вистар с ФВС, фабомотизол обладал способностью улучшать ряд поведенческих показателей, характерных для РАС [20, 189].

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 РАС.
2. Изучить действие фабомотизола на особенности поведения мышей линии BALB/c (фенотипическая модель РАС).
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 РАС 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 РАС 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) [79] особенностями, свойственными РАС, и модели фетального вальпроатного синдрома – дисфункция нервной системы вызывалась пренатальным введением высокой дозы тератогенного агента – вальпроата натрия мышам линии BALB/c [74, 194, 305]. Эксперименты осуществлялись в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [27] 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 РАС – 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 нейрохимического 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

1.1. Современные представления о расстройствах аутистического спектра

РАС представляют собой гетерогенную группу нарушений развития нервной системы, характеризующихся наличием стереотипного (стойкого и повторяющегося) поведения, сопротивления изменениям, ограниченности интересов и трудностей в социальном взаимодействии и общении [2, 32].

По данным пилотного эпидемиологического скрининга риска возникновения РАС, проводимого Минздравом России с 2014 по 2019 гг. в крупнейших регионах страны встречаемость РАС у детей в возрасте до 2 лет составила 5:10 000 [52], в возрасте до 4 лет 18:10 000 [196].

По данным Росстата, показатели заболеваемости детским и атипичным аутизмом у детей в возрасте до 14 лет с 2014 по 2018 гг. увеличились на 107,1% (с 5,3 до 11:10 000), у подростков 15-16 лет – на 206,4% (с 1,8 до 5,78:10 000) [32].

Общепризнанная распространенность РАС за последние десятилетия существенно увеличилась и оценивается на уровне 0,3-2% [174, 202, 223, 264, 302], однако существенный вклад в стремительный рост внесли пересмотр основных диагностических критериев и повышение качества диагностики.

Вариативность клинических форм РАС разнится от практически бессимптомного течения до тяжелой патологии, сопровождающейся умственной отсталостью и полной социальной дезадаптацией [32].

В соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра, выделяют следующие формы РАС (F84):

- детский аутизм – аномалии и задержки в развитии, проявляющиеся у ребенка в возрасте до трех лет; наличие психопатологических изменений во всех трех сферах РАС: эквивалентных социальных взаимодействиях, функциях общения и поведения, которое ограничено, стереотипно и монотонно:
 - аутистическое расстройство,
 - инфантильный аутизм,
 - инфантильный психоз,
 - синдром Каннера;
- атипичный аутизм – отличается от детского аутизма возрастом, в котором начинается расстройство, или отсутствием триады патологических нарушений, необходимой для постановки диагноза детского аутизма:
 - умственная отсталость с аутистическими чертами,
 - атипичный детский психоз,

- синдром Ретта – состояние, возникающее в возрасте 7-24 месяцев и встречающееся только у девочек, при котором нормальное раннее развитие осложняется частичной или полной утратой речи, локомоторных навыков и навыков пользования руками одновременно с замедлением роста головы;
- другие дезинтегративные расстройства детского возраста – тип общего нарушения развития, для которого характерно наличие периода абсолютно нормального развития до проявления признаков расстройства, сопровождаемого выраженной потерей приобретенных к тому времени навыков, касающихся различных областей развития:
 - дезинтегративный психоз,
 - синдром Геллера,
 - детская деменция,
 - симбиотический психоз;
- гиперактивное расстройство, сочетающееся с умственной отсталостью и стереотипными движениями,
- синдром Аспергера – отличается от детского аутизма отсутствием остановки или задержки развития речи и познания:
 - аутистическая психопатия;
- шизоидное расстройство в детском возрасте;
- другие расстройства развития.

С учетом неоднородности тяжести течения и симптомов, РАС диагностируется у детей в разном возрасте, однако симптоматика, в той или иной степени выраженности, проявляется уже в первые годы жизни [263, 308]. Пик диагностики обычно приходится на время похода ребенка в детский сад, когда в его жизни появляется организованная социальная среда [78]. Рецептивная и экспрессивная речь развиваются с задержкой: отсутствует жестикуляция, скудно выражены гуление и лепет. В экспрессивной речи первые слова (в форме эхоталий – повторов последних и первых слогов слов) появляются на 2-4 году жизни, и сохраняются в последующие годы. Словарный запас пополняется медленно, после 3-5 лет отмечаются короткие фразы-штампы, преобладает эгоцентрическая речь. Недостаток взаимной коммуникации проявляется в отсутствии игры-имитации, творческой игры со сверстниками. Эмоциональная сфера развивается с большой задержкой, отсутствует реакция оживления на попытки родителей взять их на руки, не формируется различение своих и чужих, нарушено восприятие разных форм социальных сигналов (тактильных, мимических, обонятельных). Нарушена инстинктивная деятельность в форме пищевого поведения. Происходит инверсия цикла «сон-бодрствование».

Психическая деятельность обеднена, стереотипна, с симптомами тождества и отсутствием подражания, не формируется абстрактное мышление [224, 263].

Помимо коммуникативного компонента в раннем возрасте происходит нарушение развития моторики [156]: первые нарушения двигательной активности могут быть выявлены уже в возрасте 3 месяцев [70], на несколько месяцев позже обычного появляются навыки сидения и стояния без опоры, самостоятельной ходьбы [54, 211]. Также возникают такие нейромоторные проблемы, как гипотония, апраксия, постуральные нарушения [202]. В частности дети с РАС в возрасте 3-6 месяцев испытывают трудности с переворотом со спины на живот, в 6-месячном возрасте они не способны длительно поддерживать сидячую позу, а при падении из неё защитные рефлексы не применяются [308]. Крупная моторика становится угловатой, с двигательными стереотипиями, атетозоподобными движениями, ходьбой с опорой на пальцы ног, мышечной дистонией [224].

В дальнейшем развитие ребенка продолжает идти с задержкой, может сохраняться инфантилизм, со школьного возраста преобладают такие симптомы как повышенная тревожность, агрессия, отрешенность, боязнь новой обстановки, жесткая приверженность распорядку дня [202].

Однозначные взгляды на этиологию заболевания на текущий момент не сформированы, однако вклад в его патогенез могут вносить 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 [32, 58, 146, 174]. 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 – основными симптомами РАС [53].

Согласно современной нейрохимической гипотезе РАС, развитие заболевания обусловлено, прежде всего, нарушениями нейротрансмиттерных систем, в том числе функциональными, совпадающими с критическими периодами развития ЦНС, и преимущественно связано с серотонинергической, глутаматергической, ГАМК-ергической, дофаминергической, холинергической и опиатной системами мозга, а также с метаболизмом окситоцина, аргинин-вазопрессина, мелатонина. Основой лечебной программы для терапии РАС являются средства, используемые для нейрохимической коррекции симптомов заболевания.

1.2. Нейрохимические изменения и патогенетическая терапия при РАС

1.2.1. Участие серотонинергической системы в патогенезе РАС

Серотонин (5-НТ) вовлечен в такие функции мозга, как эмоциональное поведение, память, способность к обучению, играет роль модулятора сна и настроения, а на этапе развития нервной системы участвует в синаптогенезе, модуляции деления, миграции, дифференцировки клеток, пролиферации и пластичности коры [181].

Активация системы 5-НТ встречается у значительного количества пациентов с РАС, с максимумом до 45% случаев от всех испытуемых [89, 121]. При этом 5-НТ в крови накапливается, главным образом, в тромбоцитах, использующих специфический транспортер 5-НТ [48]. В исследованиях на животных моделях РАС повышенный уровень 5-НТ приводил к снижению у потомства социальной мотивации, регистрируемой по ультразвуковой вокализации при разлуке с матерью [121, 245]. Оценка методом позитронно-эмиссионной томографии уровня 5-НТ как в мозге в целом, так и в отдельных его областях, показала, что для здоровых детей характерны возрастные изменения интенсивности синтеза 5-НТ: в возрасте от двух до пяти лет наблюдается повышение синтеза 5-НТ с последующим снижением в период полового созревания, тогда как у больных РАС такой динамики не выявляется или изначально низкий уровень 5-НТ с возрастом увеличивается [94, 173].

В ряде исследований установлено, что уровни переносчика 5-НТ (SERT или 5-НТТ) и самого 5-НТ были выше как при моделировании РАС на животных, так и у детей, страдающих аутизмом, в то же время имеются посмертные доказательства снижения при РАС связывания 5-НТ с рецепторами 5-НТ(2А) и 5-НТ(1А) в мозге [49].

Свидетельством участия переносчика 5-НТ в развитии симптомов РАС является повышение риска возникновения задержки развития, сопровождающейся специфическим аутичным фенотипом, с полиморфизмом гена переносчика 5-НТ SLC6A4, при замене Gly56 на Ala56 [317]. При этом также фиксируется более высокий клиренс 5-НТ в гиппокампе и гиперсеротонемия, что сопровождается гиперчувствительностью рецепторов 5-НТ(1А) и 5-НТ(2А), появлением нарушений в социальном и стереотипном поведении [317].

Применение у детей с РАС препаратов с серотонинергическим механизмом действия показало противоречивые результаты [336], хотя у взрослых пациентов эффективность терапии чаще подтверждалась, в частности, снижением стереотипного поведения [167]. Флуоксетин, селективный ингибитор обратного захвата 5-НТ, уменьшал стереотипность поведения у детей с РАС, измеряемого по детской обсессивно-компульсивной шкале Йеля-Брауна (CY-BOCS), улучшал социальное поведение, при этом агрессия, речевые ошибки (повторное употребление фраз) были менее выраженными, хотя в других исследованиях отмечалась его плохая переносимость и ограниченная эффективность [334].

Циталопрам был не эффективен в снижении повторяющихся паттернов поведения или улучшении общего функционального состояния у детей с РАС. При его применении часто наблюдались такие побочные эффекты, как импульсивность, гиперактивность, стереотипия и бессонница [334].

Кломипрамин, неселективный ингибитор обратного захвата 5-НТ, оказался эффективным в отношении таких симптомов как стереотипное поведение, гневливость, ритуальное поведение, гиперактивность, однако развивались побочные эффекты – изменения ЭКГ, тахикардия. Дальнейшие исследования показали, что дети младшего возраста хуже переносят этот препарат, частота отмены составляла 72,5%, а положительный эффект у них проявляется значительно слабее [267].

Буспирон, частичный агонист 5-НТ(1А) и антагонист дофаминовых D2 рецепторов, не уменьшал симптоматику РАС у детей раннего возраста по данным оценочных шкал, но значительно снижал стереотипное поведение [95]. Препарат рекомендуется при эмоциональных расстройствах и нарушениях сна.

Приведенные исследования подтверждают участие 5-НТ в патогенезе РАС, однако механизмы нейрохимических изменений остаются неопределенными и требуют дальнейшего изучения.

1.2.2. Участие дофаминергической системы в патогенезе РАС

Многочисленные исследования показали, что дисбаланс дофамина (DA) в определенных областях мозга может привести к поведению, характерному для РАС [109]. В частности, у детей с аутизмом продемонстрированы изменения в мезокортиколимбическом дофаминергическом сигнальном пути, такие как снижение высвобождения DA в префронтальной коре и снижение нейронального ответа в прилежащем ядре [90, 123]. У детей с РАС наблюдается нарушение связанных с функционированием дофаминергической системы таких поведенческих навыков как социальное поведение, внимание, восприятие, анализ, планирование, расстановка приоритетов, а также двигательная активность [162, 287].

Предполагается, что при РАС социальный дефицит определяется дисфункцией в мезокортиколимбической области, в то время как дисфункция в нигростриатальной области ведет к стереотипному поведению [259]. Исследования на мышах показали, что лекарственная дисфункция нигростриатального пути вызывала стереотипное поведение [192], а введение антагонистов рецептора D1 уменьшало его [210]. Также агонисты D1 рецепторов вызывали РАС-подобное поведение у нормальных и генетически нокаутированных по рецепторам D2 мышей [210].

Исследования аутопсийного мозга (стриатума) больных с синдромом Туретта, при котором наблюдаются РАС-подобные симптомы, показали аномально повышенное поглощение DA переносчиками [235]. Генетические исследования продемонстрировали связь между РАС и мутациями генов, связанных с дофаминергической системой, таких как транспортер дофамина (DAT) [163], рецепторы DA [133, 297], а также ферменты биосинтеза DA [250]. РАС тесно связаны с мутацией в гене DAT SLC6A3, который кодирует белок, способствующий регуляции уровня DA в головном мозге. Мутации в DAT у мышей вызывали аномальный отток DA и приводили к аутистическим поведенческим фенотипам [108]. Полиморфизм дофаминергических генов может модулировать дисрегуляцию эмоций и симптомы СДВГ у детей с РАС [131].

Типичные нейролептики (антипсихотики первого поколения) наиболее широко применяются для лечения детей и подростков с РАС и имеют значительную доказательную базу. Они проявляют эффективность в отношении симптомов РАС, прежде всего за счет антагонизма к рецепторам D2. Однако при приеме этих препаратов могут возникать нежелательные экстрапирамидные побочные эффекты (тремор, спазмы, ригидность, поздняя дискинезия) и гиперпролактинемия [214, 332], что ограничивает их применение. Экстрапирамидные нарушения возникают в результате антагонистического действия препаратов на нигростриатные рецепторы D2, в то время как гиперпролактинемия связывают с модуляцией тубероинфундибулярных рецепторов D2 [226].

Полагают, что атипичные нейролептики проявляют терапевтическую эффективность при РАС за счет блокады кортикальных рецепторов 5-НТ и лимбических рецепторов DA [201]. При этом при применении атипичных нейролептиков в клинически эффективных диапазонах доз частота случаев экстрапирамидных проявлений и гиперпролактинемии незначительна, что объясняется наличием у них обратимого связывания с рецепторами D2 и быстрой диссоциации, что обеспечивает нормальную нейротрансмиссию DA [214]. Равновесие между серотонин/дофаминовой блокадой способствует улучшению переносимости и повышению профиля безопасности по сравнению с типичными антипсихотиками [262].

Клинические испытания показали эффективность и переносимость рисперидона (антагонист DA и 5-НТ(2A) рецепторов, подавляет высвобождение глутамата) у детей с РАС [290, 327]: рисперидон значительно уменьшает аутодеструктивное поведение, улучшает общее функционирование, увеличивает безрецидивный период [166]. В большинстве исследований сообщалось о различных побочных эффектах рисперидона, включая гиперпролактинемия, вялость, сонливость, повышение аппетита и увеличение массы тела [214, 225].

Арипипразол также снижает раздражительность, гиперактивность и стереотипию [166], улучшает общее функциональное состояние, достаточно хорошо переносится детьми [176].

Эффекты препарата сохраняются в течение длительного времени [175]. Однако арипипразол снижает уровень пролактина, что, возможно, обусловлено его частичным агонистическим действием на рецептор D2 [176]. Общими побочными эффектами в испытаниях арипипразола были седативный эффект, сонливость, увеличение массы тела, повышение аппетита, рвота и экстрапирамидные симптомы [166].

Применение других атипичных антипсихотических препаратов у детей и подростков с РАС не получило широкого распространения вследствие их меньшей эффективности и/или выраженных побочных эффектов. Так, оланзапин улучшал показатели общего функционального состояния, однако вызывал большой прирост массы тела [207]; луразидон был не эффективен в снижении раздражительности, но улучшал показатели, оцениваемые по Шкале общего клинического впечатления (CGI-I), однако часто вызывал рвоту и сонливость [219]; кветиапин почти не снижал раздражительности, его прием сопровождался седацией, набором массы тела и агрессивным поведением [207]; zipразидон снижал раздражительность и вызывал наименьшие набор веса и метаболические нарушения по сравнению с другими атипичными антипсихотическими препаратами [112].

Типичный антипсихотик галоперидол, блокатор D2 рецепторов, значительно снижал социальную отстраненность и стереотипию при оценке по Шкале оценки детской психопатологии (CPRS) и CGI-I, положительно влиял на обучение у детей и подростков с РАС [119]. Основными побочными эффектами препарата являются дозозависимая седация и острая дистоническая реакция, частые дискинезии [83]. Высокий риск экстрапирамидных симптомов ограничивает использование галоперидола.

1.2.3. Участие глутаматергической системы в патогенезе РАС

Участие в патогенезе РАС глутамата – основного возбуждающего нейромедиатора мозга, показано рядом исследований [84, 254]. Глутамат вовлечен в нейрогенез, синаптогенез, участвует в когнитивных функциях, при его избытке развивается эксайтотоксичность, нарушается миелинизация. Соответственно, изменение концентрации глутамата на этапе развития ЦНС может приводить к нарушениям поведения, функций обучения и памяти. Глутаматные рецепторы сосредоточены в областях мозга, в которых обнаружены нейropатологические изменения при РАС (мозжечок, гиппокамп). Блокада глутаматных рецепторов может облегчать симптоматику РАС, например, анестезия кетаминотом оказывает успокаивающее действие, повышает концентрацию внимания у детей, страдающих аутизмом [6]. На основании сравнительных нейроанатомических и гистологических исследований биоматериалов больных аутизмом и психически здоровых лиц, а также на основании сходства симптоматики, вызываемой антагонистами глутаматных рецепторов, и симптомов аутизма,

было выдвинуто предположение, что РАС связаны с нарушением функции глутаматергической системы [84].

У больных РАС обнаружено достоверное повышение экспрессии генов, кодирующих переносчики глутамата – белки EAAT-1 и EAAT-2, основной функцией которых является удаление глутамата из синаптической щели [6]. При этом количество и активность EAAT-1 и EAAT-2 контролируется концентрацией внеклеточного глутамата, что свидетельствует о её повышении при РАС. В пользу участия различных компонентов глутаматергической системы в патогенезе РАС свидетельствуют генетические исследования. Обнаружена высокая корреляция аутизма с полиморфизмом гена SLC25A12, кодирующего митохондриальный аспартат/глутаматный переносчик AGC1, выявлен сцепленный с аутизмом ген глутаматного рецептора 6 (белок GluR6) хромосомы 6q21, а в нарушения речи вовлечен участок хромосомы 7q21-34, содержащий ген метаботропного глутаматного рецептора 8 (GRM8) [157, 272]. В механизме развития патологии, связанной с ломкой X-хромосомой, также отмечено нарушение функций глутаматных метаботропных рецепторов [326].

Ранняя коррекция дисфункции NMDAR значительно снижает симптоматику РАС у мышей [97, 188]. На модели РАС у грызунов, подвергшихся пренатальному введению вальпроевой кислоты, продемонстрирована селективная сверхэкспрессия субъединиц NR2A и NR2B рецепторов NMDA. Эта сверхэкспрессия вызывает усиление опосредованных NMDA-рецептором синаптических токов, что приводит к усилению постсинаптической пластичности в неокортикальных пирамидных нейронах [268].

Предпринимаются попытки лечения РАС препаратами, действие которых направлено на глутаматергическую систему. Показано, что N-ацетилцистеин, модулятор NMDA с антиоксидантными свойствами, снижает раздражительность у детей с РАС, но не уменьшает выраженность социального дефицита, стереотипного поведения и не улучшает общее функциональное состояние [247]. D-циклосерин, частичный агонист NMDA, также не улучшал социальное функционирование в исследовании у детей с РАС, обучающихся социальным навыкам [234].

Мемантин, антагонист NMDA рецепторов, не улучшал социальное поведение [52]. Известны положительные результаты применения антагониста NMDA-рецепторов амантадина в отношении гиперактивности и нарушений речи, причем больные хорошо переносили этот препарат, хотя снижения раздражительности у детей и подростков с РАС не отмечалось [196]. При этом показано предпочтительное применение рisperидона в комбинации с мемантином, рилузолем (антагонист глутамата), N-ацетилцистеином и амантадином для снижения раздражительности по сравнению с монотерапией антипсихотиком [140].

1.2.4. Участие ГАМК-ергической системы в патогенезе РАС

Дисбаланс между возбуждающей (глутаматергической) и тормозящей (ГАМК-ергической) нейромедиаторными системами является одним из ведущих факторов патогенеза РАС [151, 244]. Снижение контроля со стороны ГАМК-ергических нейронов может приводить к гипервозбуждению чувствительных нейронов [291]: в первую очередь могут повреждаться пирамидальные нейроны [134]. Необходимо отметить, что в период развития нервной системы ГАМК-рецепторы отличаются от таковых у взрослых: в этот период ГАМК представляет собой основной возбуждающий нейротрансмиттер и влияет на пролиферацию, миграцию, созревание синапсов, дифференцировку и гибель клеток [107].

У детей с РАС в плазме крови наблюдается повышение уровня ГАМК [44] и соотношения глутамат/глутамин, в то время как уровень глутамина и соотношение глутамат/ГАМК снижаются [51]. Подобный дисбаланс приводит к задержке развития, умственной отсталости, шизофрении и эпилепсии [125].

У детей с идиопатическим РАС магнитно-резонансная спектроскопия показала снижение концентраций глутамата в стриатуме [168] и ГАМК в двигательной, зрительной, слуховой, соматосенсорной и в перисильвиевой областях левого полушария мозга [263]. В другом исследовании при анализе уровней ГАМК в левой теменной доле у детей в возрасте 4-12 лет отмечен изначально низкий уровень кислоты, который постепенно нарастал и достигал к 9-летнему возрасту показателей детей без патологии, а в дальнейшем превышал показатели нормы [105].

Продолжается изучение ассоциации участка хромосомы 15q11-q13 – области возникновения делеций и дупликаций геномной ДНК, которая содержит три гена субъединицы рецептора ГАМК (GABRB3, GABRA5 и GABRG3), которые кодируют субъединицы $\beta 3$, $\alpha 5$ и $\gamma 3$, с рисками развития РАС [224].

Снижение плотности ГАМК-А и ГАМК-В рецепторов в мозжечке [151], экспрессии гена GABRB3 [314], и достоверное снижение численности связывания меченых молекул-лигандов в гиппокампе обнаружено у больных с РАС [169].

В то же время, иное исследование корреляции генов глутаматергических и ГАМК-ергических систем с симптоматикой у пациентов с СДВГ и аутизмом показало значимую связь между глутаматными генами и выраженностью симптомов гиперактивности и импульсивности, однако ассоциации с симптомами РАС в обеих системах генов не обнаружено [244].

Арбаклофен, селективный агонист ГАМК-В, показал значительное улучшение общего функционального состояния у детей с РАС [316], но был не эффективен в отношении социальных навыков, коррекции нарушений сна, росте социальных контактов [68], вызывал

эмоциональную лабильность, седативный эффект, бессонницу, беспокойство и нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта [68, 316].

Буметанид, модулятор ГАМК, уменьшал симптоматику РАС при измерении по Шкале оценки детского аутизма (CARS), Шкале социальной отзывчивости (SRS) и CGI-I у детей и подростков, но вызывал побочные эффекты: дозозависимую гипокалиемию, учащенное мочеиспускание, обезвоживание, потерю аппетита и астению [212].

Таким образом, монотерапия препаратами, воздействующими на ГАМК- и глутаматергические системы в ряде случаев оказывает умеренный позитивных эффект на течение РАС, но всё же не оправдывает возложенных ожиданий. Можно предположить, что этот феномен может быть обусловлен возникновением дисбаланса в данных системах уже на ранних этапах онтогенеза, приводя к структурным изменениям, слабо поддающимся коррекции к моменту начала терапии.

1.2.5. Участие холинергической системы в патогенезе РАС

Холинергическая система, наряду с другими функциями, участвует в регуляции внимания [283], когнитивной гибкости [150], социального взаимодействия [59]. У больных РАС наблюдается нарушение количества и структуры нейронов в базальном переднемозговом холинергическом ядре [313], а также снижение уровня холина, предшественника нейромедиатора ацетилхолина (ACh) и агониста никотиновых рецепторов ацетилхолина (nAChR) [127], что уменьшает активацию префронтальной коры, снижая внимание и мыслительную деятельность.

Доказательством нарушений холинергической системы при РАС также является значительное снижение экспрессии гена $\alpha 4\beta 2$ подтипа nAChR в теменной и лобной коре, обнаруженное в посмертных образцах головного мозга пациентов с РАС [321], тогда как в мозжечке наблюдаются уменьшение и аномальные формы структурных субъединиц $\alpha 4$ nAChRs, которое может быть связано с потерей клеток Пуркинье и с компенсаторным увеличением аномальных форм $\alpha 7$ подтипа nAChR [228].

На животных моделях РАС продемонстрировано участие nAChR в модулировании социального и стереотипного поведения [208]. У мышей, нокаутированных по субъединицам $\alpha 4$ nAChR, $\beta 2$ nAChR или $\alpha 7$ nAChR соответственно, наблюдались повышение тревожности, патологический режим сна и стереотипное поведение [213, 273, 328].

Доказательства эффективности применения ингибитора холинэстеразы донепезила у детей с РАС носят противоречивый характер: препарат значительно улучшил показатели CARS и показатели экспрессивной и восприимчивой речи [130], однако не влиял на когнитивную и поведенческую деятельность [80].

Совместное применение ингибитора ацетилхолинэстеразы галантамина с рисперидоном у детей с РАС сильнее снижало раздражительность и социальные нарушения, чем монотерпия рисперидоном, при той же частоте побочных эффектов [138].

1.2.6. Участие мелатонина в патогенезе РАС

Дети с РАС часто страдают нарушениями сна, такими как, трудности с засыпанием, бессонница и парасомния [295]. Мелатонин является основным регулятором ритма сна и бодрствования, уменьшает латентность сна, является мощным антиоксидантом, играет роль в развитии и пластичности нервной системы, а также может играть роль в гомеостазе плаценты [93]. Во время беременности мелатонин может проникать через плаценту, обеспечивая фотопериодическую информацию для плода и устанавливая нормальный цикл сна, который необходим для нормального развития нервной системы [182]. Также материнский мелатонин до созревания эпифиза плода защищает от воспаления и повреждения головного мозга [182]. В исследованиях у пациентов с РАС были выявлены пониженные уровни плазменного метаболита мелатонина, мелатонина и сниженная экскреция мелатонинсульфата с мочой [310]. Более того, уровни 6-сульфатоксимелатонина оказались значительно ниже у матерей детей с РАС [75]. У части пациентов с РАС отмечаются специфические аномалии генов (MTNR1A, MTNR1B, GPR50 и ASMT), что может способствовать снижению уровня мелатонина, нарушать его синтез или изменять функцию его рецептора [274].

Мелатонин хорошо переносится и значительно увеличивает общую продолжительность сна, снижает период засыпания и общие нарушения сна у детей с РАС [145, 180]. Также показано, что препарат способен улучшать коммуникативные навыки, снижать ригидность и тревожность у детей с РАС [170]. Появляется всё больше доказательств того, что мелатонин может оказывать влияние на другие симптомы, помимо сна, такие как беспокойство, депрессия, боль и желудочно-кишечные расстройства [132]

1.2.7. Участие окситоцина и аргинин-вазопрессина в патогенезе РАС

Окситоцин участвует в ряде физиологических процессов, в том числе в родах и лактации, изменяет синаптическую пластичность и модулирует социальные модели поведения, такие как зрительный контакт, социальное признание, агрессивность, социально-сексуальное поведение, которые играют существенную роль в формировании эмоционального и социального «я». Имеются данные о том, что в плазме больных РАС наблюдается изменение уровней окситоцина и аргинин-вазопрессина, что коррелирует с нарушением у больных межличностных взаимодействий [171], а также установлена связь между степенью метилирования гена окситоцинового рецептора (OXTR) и симптомами РАС [258]. На

основании этих данных и ряда других [266] было выдвинуто предположение, что сбой окситоцинергической системы на ранних стадиях развития нервной системы может повлиять на социальное поведение путем изменения синаптической активности и пластичности [266].

Результаты исследований на здоровых людях указывали на потенциал окситоцина в улучшении социального познания и стереотипного поведения [136], но значительного эффекта у детей с РАС окситоцин не оказал [256], отмечены единичные работы по улучшению социального функционирования у детей с РАС при измерении показателей по шкале SRS [257].

1.2.8. Участие опиатной системы в патогенезе РАС

Нарушения опиатной системы были зарегистрированы у пациентов с РАС, особенно в отношении аутодеструктивного поведения [279]. Основываясь на предполагаемой роли эндогенных опиоидов, таких как β -эндорфин и энкефалин, в регуляции социального поведения, были оценены эффекты антагониста опиатов налтрексона при РАС: препарат снижал гиперактивность, но не демонстрировал эффективность в улучшении коммуникации и редукции других симптомов РАС [276].

1.2.9. Роль кальция в патогенезе РАС

Кальциевая сигнализация участвует во многих важных клеточных функциях, в которые вовлечены органеллы, ткани и физиологические системы организма [66], и дерегуляция в любой точке кальциевого сигнального пути может привести к нарушению функционирования нервной системы [69, 299].

Ca^{2+} координирует широкий спектр клеточных процессов через внутриклеточные пространственные и временные градиенты концентрации [67]. Эти градиенты устанавливаются и поддерживаются кальциевыми насосами, потенциал-зависимыми и лиганд-зависимыми ионными каналами, а также разнообразным набором семейств кальцийсвязывающих белков, которые совместно регулируют цитозольную и органелльную концентрации Ca^{2+} и его сигнализацию. Кроме того, они необходимы для таких когнитивных функций, как синаптическая пластичность, память, возбудимость нейронов, высвобождение нейромедиаторов, рост аксонов и долгосрочные изменения экспрессии генов в нейронах [251].

В состоянии покоя концентрация цитозольного Ca^{2+} поддерживается на уровне ~ 100 нМ, что в 10000 раз ниже концентрации внеклеточного кальция. При стимуляции ионы Ca^{2+} мобилизуются из внутриклеточных запасов, таких как эндоплазматический ретикулум (ЭР), или из внеклеточной среды, чтобы увеличить концентрацию цитозольного Ca^{2+} . Митохондрии регулируют эти изменения, секвестрируя Ca^{2+} в митохондриальный матрикс через митохондриальные кальциевые унипортерные каналы (mCU) [139]. Также Ca^{2+} медленно

поглощается насосом ЭР кальциевой АТФазы (SERCA) или выводится из клетки через насосы кальциевой АТФазы плазматической мембраны (PMCA) [106].

ЭР – это многофункциональная внутриклеточная органелла, которая служит внутриклеточным хранилищем Ca^{2+} и местом синтеза белка и липидов. ЭР также регулирует стресс-реакцию путем передачи сигналов, полученных из несвернутых белков, накапливающихся в нём [160].

Рецепторы инозитол-3-фосфата (ИФ3) – это семейство кальций-проницаемых ионных каналов, повсеместно экспрессирующихся и преимущественно обнаруженных в мембране ЭР почти всех известных клеток [126]. Функционально рецепторы ИФ3 представляют собой тетрамеры, субъединицы которых состоят из большого цитозольного N-конца, шести трансмембранных доменов, содержащих пору ионного канала, и короткого цитозольного C-конца [306].

Митохондрии находятся в непосредственной близости к каналам рецепторов ИФ3, и имеют с ними “синапс-подобные” контакты [99, 102]. В этих областях, называемых мембранами, связанными с митохондриями (МММ), достигаются более высокие концентрации Ca^{2+} по сравнению с цитоплазмой за счет микродоменов, способствующих быстрому переносу Ca^{2+} [269]. МММ не содержат рецепторов рианоина (RyRs), но обогащены ИФ3-рецепторами, физически связанными с потенциал-зависимыми анионными каналами (VDAC) во внешней митохондриальной мембране через молекулярный шаперон – связанный с глюкозой белок 75 (GRP75), который облегчает перенос Ca^{2+} из просвета ЭР в митохондриальный матрикс [199]. Таким образом, происходит регуляция биоэнергетики и образования свободных радикалов в митохондриях: Ca^{2+} , поступающий через МММ, активирует ферменты, участвующие в цикле трикарбоновых кислот, тем самым потенцируя выработку АТФ [160].

ИФ3-опосредованное высвобождение Ca^{2+} из ЭР, индуцированное активацией mGluRs, запускает кластеризацию ГАМК_A-рецепторов, что приводит к усилению ГАМКергической передачи [64]. Данный механизм предотвращает дисперсию этих рецепторов, вызванную NMDA-рецепторзависимым притоком Ca^{2+} . Нарушение ИФ3-пути высвобождения Ca^{2+} было сначала подтверждено у пациентов с синдромом ломкой X-хромосомы и туберозным склерозом [285], а в дальнейшем и при спорадических РАС [284]. Следовательно, сниженное высвобождение Ca^{2+} , опосредованное ИФ3, может привести к дисбалансу возбуждения-торможения, что может быть важным фактором при дебюте РАС [217].

Таким образом, аномалии в ИФ3-опосредованной кальциевой сигнализации способствуют неврологическим и поведенческим фенотипам, наблюдаемым при аутизме. Однако трансдукция Ca^{2+} в клетке включает в себя многочисленные взаимосвязанные пути, которые также могут вносить вклад в патологический процесс. Например, были выявлены

мутации RyRs и PMCA, хотя патогенетические механизмы, с помощью которых они нарушают передачу сигналов, еще не определены [251].

1.3. Перспективы применения лигандов сигма-1 рецепторов при РАС

С учетом наличия многочисленных нейрохимических изменений при РАС, возникает запрос на поиск субстратов, воздействие на которые позволяло бы компенсировать большую часть нарушений в функционировании и взаимодействии нейротрансмиттерных систем. Таковым может оказаться сигма-1 рецептор – связанный с мембраной белок-шаперон [260]. В клетках сигма-1 рецепторы располагаются на МАМ, через которые помимо тока Ca^{2+} осуществляется липидный обмен, обмен митохондриальной ДНК, передача сигналов ядру при стрессе [104]. Сигма-1 рецептор не имеет общих черт ни с одним белком млекопитающих [152], однако он широко распространен в периферических органах и различных областях центральной нервной системы, участвующих в памяти, эмоциях, сенсорных и моторных функциях [81]. Основная роль данного рецептора – усиление или уменьшение сигнализации, инициируемой при контакте с белками-мишенями [315]. При нарушении гомеостаза сигма-1 рецепторы оказывают модулирующее действие на D1 и D2 рецепторы, NMDA-рецепторы, мю-опиоидные рецепторы, мускариновые ацетилхолиновые рецепторы [238, 300], потенцируют секрецию BDNF [128], стимулируют миелинизацию, нейрито- и синаптогенез [8]. В частности, сигма-1 рецепторы в МАМ стабилизируют активированный ИФ3-рецептор типа 3, обеспечивая таким образом надлежащий приток Ca^{2+} от ЭР к митохондриям, повышая антиоксидантные свойства клетки и снижая окисление свободными радикалами, а на плазматической мембране ингибирует пресинаптические кальциевые каналы, способствуя передаче сигналов между нейронами вегетативных ганглиев [104]. Регуляция кальциевого тока сигма-1 рецептором объясняет, почему его селективные агонисты могут модулировать широкий спектр нейрональных эффектов [8]. Нокдаун сигма-1 рецепторов индуцирует накопление активных форм кислорода (АФК) и активацию NFkB, в то время как его сверхэкспрессия ингибирует генерацию АФК в клетках [232].

Белки-сенсоры ЭР-стресса контролируют концентрацию неправильно свернутых белков в просвете ЭР и регулируют экспрессию молекулярных шаперонов [239]. Из белков-индикаторов стресса (IRE-1, PERK и ATF-6) на МАМ располагается IRE-1 [240]. Сигма-1 рецептор стабилизирует IRE-1, причем связь с IRE-1 происходит только при активации последнего (т. е. фосфорилировании) при ЭР-стрессе, продлевая эндонуклеазную активность IRE-1 в клетках. Отсюда следует уникальность лигандов сигма-1 рецептора, заключающаяся в наличии лечебного эффекта при патологических состояниях, в частности при ЭР-стрессе или

митохондриальном стрессе, и отсутствии влияния при нормальном состоянии [229, 249], то есть они обеспечивают нормализацию физиологических или поведенческих функций [159].

Существенной особенностью сигма-1 рецептора является его внутриклеточная подвижность: как упоминалось ранее, в основном он локализован на МАР, но также способен перемещаться на плазматическую мембрану и ядерную оболочку [271]. В естественных условиях сигма-1 рецептор образует комплексы с другим резидентным белком ЭР, BiP (или Grp78), и выход Ca^{2+} из ЭР происходит в результате диссоциации этих двух белков. Затем сигма-1 рецептор становится доступным для транслокации и выполнения своих функций шаперона, стабилизируя белки-мишени, такие как рецептор ИФ3 [158].

Применение агонистов сигма-1 рецептора вызывает анксиолитический, нейропротективный, кардиопротективный, прокогнитивный, антидепрессивный, антиобсессивный эффекты, уменьшает тики, дискинезии, экстрапирамидные побочные явления [260, 315]. Некоторые лиганды усиливают диссоциацию комплексов сигма-1 рецептор /BiP, облегчая взаимодействие сигма-1 рецептора с другими белками, например, ионными каналами [158]. Примерами применяемых в клинической практике лигандов, способствующих диссоциации сигма-1 рецептора из BiP, являются пентазоцин, флувоксамин, флуоксетин, донепезил, амантадин, кокаин [158]. Напротив, другие лиганды сигма-1 рецептора могут стабилизировать его в неактивном состоянии, либо связываясь с BiP, либо производя его олигомеризацию, такими соединениями являются галоперидол, метамфетамин, прогестерон [8, 158, 236]. На основании вышеприведенных данных можно предположить наличие у агонистов сигма-1 рецептора положительных клинических эффектов на симптомы РАС как при монотерапии, так и при комплексном применении с нейролептиками.

1.4. Фармакология фабомотизола (афобазола)

Перспективным направлением при лечении РАС может оказаться применение препаратов с мультитаргетным действием, влияющих на патогенетически значимые мишени. К препаратам такого типа относится отечественный препарат фабомотизол. Фабомотизол (5-этоксиф-2-[2-(морфолино)-этилтио]-бензимидазола дигидрохлорид) является агонистом Sig-1R ($K_i = 5,9$ мкМ), ингибитором регуляторных сайтов хинонредуктазы-2 (NQO2/QR2; MT3-рецептор, $K_i = 0,97$ мкМ) и обратимым и селективным ингибитором МАО-А ($K_i = 3,6$ мкМ), слабым агонистом мелатониновых рецепторов 1 типа (MT1-R, $K_i = 16$ мкМ), ассоциированных с G-белками. [9, 14, 34]. Активация хинонредуктазы-2 может приводить к порочному кругу с синтезом активных форм кислорода вследствие окисления получаемых гидрохинонов, окислительным стрессом и последующим повреждением клеток. Следовательно, её ингибирование в отдельных случаях повышает цитопroteкцию в ЦНС, что совместно с

активацией сигма-1 рецептора дает выраженный нейропротекторный эффект [9]. За счет взаимодействия с сигма-1 рецептором предотвращается стресс-индуцированное падение связывания в бензодиазепиновом участке ГАМК-А рецептора [37]. Антидепрессивно-подобное действие фабомотизола, вероятно, достигается благодаря как активации сигма-1 рецептора, так и ингибированию МАО-А.

После перорального приема фабомотизол хорошо и быстро всасывается из ЖКТ: $T_{\max}$ — $(0,85 \pm 0,13)$ ч, $C_{\max}$ в плазме — $(0,13 \pm 0,073)$ мкг/мл. Он интенсивно распределяется по хорошо васкуляризированным органам, для него характерен быстрый перенос из центрального пула (плазма крови) в периферический (сильно васкуляризованные органы и ткани). Фабомотизол подвергается эффекту первого прохождения через печень, основными направлениями метаболизма являются гидроксилирование по ароматическому кольцу бензимидазольного цикла и окисление по морфолиновому фрагменту. $T_{1/2}$ препарата при приеме внутрь составляет $(0,82 \pm 0,54)$ ч. Фабомотизол выводится преимущественно в виде метаболитов и частично в неизменном виде с мочой и калом [41].

Основными побочными эффектами препарата являются аллергия и головная боль при отсутствии таких распространенных в терапии РАС эффектов, как атаксия, сонливость, миорелаксация, седация; прекращение приема фабомотизола не сопровождается синдромом отмены или астеническим синдромом, благодаря чему препарат обладает хорошей переносимостью [4].

При совместном применении фабомотизола с галоперидолом на животных было продемонстрировано усиление антипсихотического действия при снижении экстрапирамидных и каталептогенных побочных эффектов [33].

При исследовании эффектов фабомотизола на расстройства сна неорганической этиологии у пациентов с тревожными расстройствами показано улучшение основных характеристик сна при его приеме перед сном в дозе 20 мг [47].

При изучении воздействия на общее функциональное состояние в популяции здоровых людей фабомотизол достоверно увеличивал скорость моторных и зрительных реакций, концентрацию и распределение внимания [5]. Позитивный эффект на показатели внимания также был продемонстрирован у пациентов с тревожными расстройствами [40]. Данное действие препарата также можно расценить позитивно при лечении РАС в связи со значительной частотой таких коморбидных состояний, как СДВГ, тревожные расстройства. Показано, что у детей с СДВГ фабомотизол не только уменьшал тревожность, раздражительность, отвлекаемость, гиперактивность и импульсивность, но и улучшал их когнитивное функционирование, концентрацию внимания, характеристики рабочей памяти [4].

В ряде клинических исследований влияния фабомотизола при генерализованном тревожном расстройстве и расстройстве адаптации препарат демонстрировал лучшую динамику снижения уровня тревоги при более высоком профиле безопасности по сравнению с бензодиазепинами [39]. У женщин с климактерическим синдромом препарат улучшал психоэмоциональное состояние, оказывал положительное влияние на когнитивные функции (память и внимание) [43].

На экспериментальной модели РАС у крыс фабомотизол восстанавливал характерное видовое поведение при предъявлении запаха хищника, снижал проявления тревоги [20], улучшал социальное взаимодействие [36]. Таким образом, рядом клинических и экспериментальных данных продемонстрирована способность фабомотизола оказывать комплексное позитивное воздействие на ряд аутичноподобных симптомов РАС и коморбидных состояний.

1.5. Основные методы изучения РАС в эксперименте

Для моделирования РАС применяются генетические, фенотипические модели и, так называемые, модели внешнего воздействия, которые также сопровождаются рядом анатомических изменений ЦНС: нарушения в строении мозжечка, лимбической системы, лобной коры, мозолистого тела [113]. В частности, при ФВС у грызунов диагностируется снижение объема отдельных структур мозжечка [298], при котором уменьшение объема серого вещества коррелирует с тяжестью поведенческих и когнитивных нарушений [111]. Как миндалевидное тело, так и лобная кора при РАС характеризуются преждевременным чрезмерным ростом, а затем нормализуются или даже уменьшаются в объеме или количестве клеток [118], при этом нарушения архитектоники в дальнейшем сохраняются [100]. Также подтверждено уменьшение размера мозолистого тела при РАС [79, 148], а тяжесть симптомов коррелирует не с его размерами, а с выраженностью функциональных нарушений [215].

Среди генетических моделей, обладающих основным симптомокомплексом РАС, наиболее распространено использование мутаций, ассоциированных с нарушениями глутаматергической и ГАМК-ергической систем. Так, мутации в генах нейролиггинов и нейрексина приводят к нарушению дифференцировки глутаматергических и ГАМК-ергических синапсов [313]. В частности, мутации гена контактин-ассоциированно-подобного белка 2 (CNTNAP2), сопровождаются дефектами миграции нейронов, уменьшением количества ГАМКергических нейронов и высоко асинхронной активностью корковых нейронов [137]. Исследования на различных моделях мышей с мутациями гена SHANK3 подтверждают дефицит глутаматергической передачи [230, 322]. Мутации в гене MECP2 (вызывают синдром Ретта) приводят к снижению массы мозга, истончению неокортекса, увеличению плотности

клеток в неокортексе, гиппокампе и мозжечке [313]. Дефицит MeCP2 сопровождается уменьшением количества глутаматергических синапсов и повышением уровня AMPA [216]. Нарушение синтеза гена FMRP при синдроме ломкой X-хромосомы [61] приводит к патологии синапсов: количество возбуждающих синапсов в прилежащем ядре увеличивается [248], а ГАМКергических в миндалевидном теле – уменьшается [255], при этом может также наблюдаться снижение количества активных везикул в пресинаптических щелях в гиппокампе [197].

Моделирование туберозного склероза (TSC) осуществляется мутациями в гене TSC1, кодирующем белок хамартин, или в гене TSC2, кодирующем туберин, приводит к потере их ингибирующего действия в отношении белка mTOR и нарушению регуляции передачи сигналов последнего [313]. TSC сопровождается нарушением кортикальной ламинации, миграции и дифференцировки кортикальных нейронов [172] и наличием крупных клеток нервной ткани с дефектами дифференцировки [237], уменьшением количества клеток, сопровождающееся склерозом гиппокампа и атрофией мозжечка [73].

Особенностями генетических моделей вследствие генерализованного, а не локального воздействия является выраженный коморбидный фон, который может преобладать над симптоматикой РАС и нарушать клиническую картину изучаемого заболевания, что ограничивает их применение. В то же время избирательность мутаций может приводить к проявлению лишь отдельных черт, а не полноценного симптомокомплекса РАС [313].

Для изучения отдельных симптомов РАС применяются разные линии грызунов, обладающие отдельными фенотипическими особенностями, или их рядом, сходными с РАС, однако наиболее полное раскрытие симптомокомплекса заболевания наблюдается на мышах линий BTBR и BALB/c.

Мыши линии BTBR демонстрируют поведенческий фенотип, соответствующий диагностическим критериям РАС, включая снижение коммуникабельности и повторяющееся поведение [278]. Помимо клинической картины, были выявлены нейроанатомические сходства между данной моделью и некоторыми субпопуляциями пациентов с РАС: полная агенезия мозолистого тела и уменьшение комиссуры гиппокампа, стриатума [120, 184].

Особенностями линии BTBR также являются высокая плотность рецепторов 5HT1A [142] при сниженном количестве серотонинергических клеток в гиппокампе [147], что компенсируется их повышенным количеством в прилежащих областях мозга [278]. Помимо нарушений серотонинергической передачи у мышей также изменена дофаминергическая нейротрансмиссия: нарушение функции рецептора D2 приводит к гипоактивации системы вознаграждения при введении ингибиторов обратного захвата дофамина [296].

Инбредные штаммы мышей BALB/c демонстрируют относительно низкие уровни социального взаимодействия в различных условиях и на разных стадиях развития, указывая на в целом низкий уровень коммуникабельности, который наблюдается при РАС. Мыши BALB/c также обладают другими характерными для РАС чертами, включая поведенческие (относительно высокий уровень тревожности и агрессивного поведения, нарушение социального взаимодействия, социальной интерпретации обонятельных и тактильных сигналов) и анатомические (большой размер головного мозга, недоразвитие или отсутствие мозолистого тела, уменьшение гиппокампа) [57, 79, 333]. Из нейрохимических особенностей для мышей BALB/c характерны низкие уровни 5-НТ, повышенная чувствительность к антагонистам NMDA-рецепторов, что может играть определенную роль в наблюдаемом дефиците социальной сферы [178]. Высокие уровни катехол-О-метилтрансферазы могут приводить к снижению уровней моноаминов, а декарбоксилазы L-глутаминовой кислоты – к нарушению равновесия возбуждения / торможения ЦНС [21]. Помимо вышеперечисленного, мыши линии BALB/c обладают пассивным фенотипом эмоционально-стрессовой реакции, сопровождающимся сниженным двигательным и исследовательским поведением и реакцией замирания в новой обстановке, что обусловлено характерным для данного фенотипа падением связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМК-А рецептора в ответ на эмоционально-стрессовое воздействие, проводящим к сдвигу баланса возбуждения / торможения [45, 46].

Генетические факторы играют важную роль в этиологии РАС, но согласно многочисленным данным последних лет, влияние окружающей среды, особенно во время беременности или в раннем постнатальном периоде, способствует развитию РАС [183]. В последние десятилетия растет число исследований, моделирующих РАС путем пренатального или раннего постнатального введения вальпроевой кислоты (ВПК) [222]. Ранее было отмечено, что применение ВПК женщинами с целью лечения эпилепсии в детородном возрасте, особенно в течение первого триместра беременности, приводит к тератогенным эффектам у потомства, в частности, к снижению когнитивных функций и высокому риску развития РАС [92]. Патогенез тератогенного действия препарата обусловлен несколькими механизмами. Повышение содержания АФК в сочетании с незрелой системой антиоксидантной защиты мозга приводит к повышению маркеров апоптоза, которые, в свою очередь вызывают нарушения формирования нервной трубки. Другой фактор – ингибирование ВПК гистондеацетилазы, что сопровождается гиперацетилированием гистонов и приводит к апоптозу в неокортексе и увеличению плотности глутаматергических нейронов [222].

Воздействие ВПК на грызунов вызывает развитие симптоматики, аналогичной таковой у пациентов с РАС, включая снижение социальных взаимодействий, усиление повторяющегося

или стереотипного поведения, сниженную чувствительность к боли, повышение тревожности, снижение исследовательского поведения [62].

Наряду с поведенческим фенотипом, грызуны, подвергшиеся воздействию ВПК, демонстрируют нейроанатомические и клеточные изменения, аналогичные РАС человека, включая уменьшение количества моторных клеток в моторных ядрах черепных нервов в стволе головного мозга [177], уменьшение объема мозжечка и уменьшение количества клеток Пуркинье в червеобразных долях мозжечка, а также повышенную синаптическую пластичность префронтальной коры, изменения уровней моноаминов и нейротрансмиссии аминокислот [116, 246, 311] и снижение корковой экспрессии BDNF [275]. У мышей, подвергшихся воздействию ВПК, наблюдается снижение количества парвальбуминовых ингибирующих интернейронов в теменной и затылочной части коры головного мозга, что может привести к снижению торможения и, таким образом, к сдвигу в балансе возбуждения/торможения в неокортикальных сетях [186, 312, 323].

Повышенные уровни экспрессии субъединиц рецептора NMDA (NR2A и NR2B) и СаМКП усиливают опосредованную рецептором NMDA передачу и увеличивают долгосрочную постсинаптическую потенцию в соматосенсорной коре головного мозга крыс, подвергшихся воздействию ВПК [268]. Помимо этого, сниженная экспрессия мРНК Нейролигнина 3 была обнаружена в соматосенсорной коре и гиппокампе мышей, подвергнутых воздействию ВПК [198].

Чтобы имитировать интранатальное воздействие ВПК на человека, было предложено несколько временных точек воздействия ВПК на грызунов. В большинстве исследований животные подвергались воздействию во время органогенеза. Наиболее частыми временными точками воздействия ВПК являются 12,5 [154, 221] и 13 [88, 321] дни эмбрионального развития у мышей, что соответствует периоду окончания формирования нервной трубки.

Экспериментальные дозы ВПК варьируются от 300 до 800 мг/кг [122]. Дозы ВПК, вводимые грызунам, примерно в 10-20 раз превышают терапевтическую дозу человека [71], что объясняется видовыми различиями в фармакокинетике ВПК, более высокой биодоступностью препарата для человека [124] и быстрой элиминацией у грызунов [220]. Помимо этого, в большинстве исследований использовалось однократное введение ВПК, в то время как у человека длительный прием препарата сопровождается накопительным эффектом.

Одним из механизмов, запускающих РАС, может являться феномен материнского иммунного импринтинга, основанный на трансплацентарном поступлении антител матери класса IgG к плоду и эпигенетической «настройке» иммунной системы будущего ребенка. Материнские антитела к белкам головного мозга плода могут возникать в результате иммунного ответа на молекулярную мимикрию, нарушения толерогенных механизмов или

аллоиммунизации к фетальным антигенам во время предыдущей беременности [77]. Наличие у плода материнских ЦНС-реактивных IgG в критические периоды нервно-психического развития, по-видимому, способно провоцировать РАС. При введении беременным мышам человеческих IgG матерей детей с РАС потомство демонстрировало стереотипное повторяющееся поведение при снижении социальных взаимодействий [115]. Другой антенатальный фактор развития РАС – это материнская иммунная активация (МИА). В частности, дети, матери которых страдали воспалительными заболеваниями во время беременности, подвергаются существенно более высокому риску развития РАС. МИА-индуцированные РАС моделируются путем воздействия на беременных мышей вирусным миметиком полиинозиновой полицитидиловой кислотой (PolyI:C) в ключевые периоды развития нервной системы [204]. Основными известными на текущий момент медиаторами ассоциированных с МИА нарушений являются IL-6 и IL-17a. Введение ИЛ-6 беременным мышам на E12,5 приводит к развитию аутистического поведения у потомства [294]. Продукция IL-17a материнскими клетками Th17 сопровождается поведенческими аномалиями и нарушениями кортикального созревания у потомства [91]. Также выявлено, что состав материнской микробиоты значительно влияет на частоту и тяжесть индуцированных МИА нарушений нервной системы, в частности, опосредованная микробиотой коррекция ответов IL-17a [195].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Препараты

В работе использовали субстанцию фабоматизола (афобазола) (АО «Отисифарм», серия 189638-30-0, дата производства 05/2018), натриевую соль вальпроевой кислоты (ВПК) (Sigma-Aldrich Company, Merck, серия P4543-25G, lot MKCJ7640), дистиллированную воду. В качестве растворителя использовали физиологический раствор (Натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9%; производитель: Белорусско-голландское совместное предприятие ООО «Фармлэнд») или дистиллированную воду.

2.2. Животные

В работе использовались самцы мышей линий BALB/c и C57Bl/6, самцы аутбредных мышей SHK, а также самцы и самки мышей линии BALB/c, родительское поколение которых, как и вышеперечисленные животные, было получено из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (Московская область). Организация и проведение экспериментов осуществлялись в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Животные содержались в стандартных условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» при регулируемом световом режиме 12ч/12ч (свет/темнота) и постоянной температуре (21-23⁰С) со свободным доступом к воде и гранулированному корму в полипропиленовых клетках с решеткой из цинкохромовой стали, с обеспыленной подстилкой из деревянной стружки в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденными постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29 августа 2014 г. N 51, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» и ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур». Эксперименты с животными проводили в соответствии с 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 25 января 2019 г, протокол № 1 от 31 января 2020 г.).

2.3. Дизайн исследования поведенческих изменений на фенотипической модели PAC

Исследование мышей линии BALB/c как фенотипической модели PAC выполнено на самцах мышей линии BALB/c 5 недельного возраста и массой 13-15 г, на самцах мышей линии C57Bl/6 возрастом 5 недель массой 20-22 г и на самцах аутбредных мышей SHK возрастом 5 недель, массой 22-26 г на начало эксперимента.

При исследовании эффектов фабомотизола на самцов мышей линии BALB/c препарат в дозе 10 мг/кг вводили внутривентриально за 40 минут до начала эксперимента, контрольной группе вводили 0,9% раствор хлорида натрия в эквивалентном объеме (0,1 мл на 10 г веса).

Животных рандомизировано распределяли по группам (численность групп указана в таблицах в разделе «Результаты исследования»). Оценка поведения животных проводилась в следующих тестах: оценка двигательной активности в актометре, «социальное взаимодействие», «откапывание еды», «обонятельная дискриминация», «обследование отверстий», «закрытый крестообразный лабиринт», «открытое поле со сменой освещенности», «Т-лабиринт с пищевым подкреплением», «водный лабиринт Морриса», «обонятельная габитуация/дисгабитуация», описание которых в целях избегания повторений с методиками, используемыми для оценки нарушений, вызванных ФВС, дано ниже.

2.4. Дизайн исследования поведенческих изменений на модели PAC у мышей BALB/c с ФВС

Для моделирования PAC получали «датированную беременность»: к 2-3-м виргинным самкам мышей BALB/c, находящимся на стадии проэструса или эструса, определяемой по цитологической картине влагалищного мазка, с 17-и часов вечера до 9-и утра следующего дня, который впоследствии принимали за «0» (E0) день развития плода, подсаживали 1-го самца. Оплодотворенных самок содержали по 4-5 особей в одной клетке до появления видимых признаков беременности, после чего размещали в индивидуальные клетки. PAC моделировали путем подкожного введения ВПК в дозе 400 мг/кг самкам мышей BALB/c на 12,5 день беременности (E12,5) [122, 221, 305, 320]. Самкам, из потомства которых формировали группы «пассивного» контроля, в эти же сроки (E12,5) подкожно вводили 0,9% раствор хлорида натрия в эквивалентном объеме (0,1 мл на 10 г веса). День появления мышат принимали за «0» сутки постнатального развития (P0).

Для дальнейшего исследования на основании данных о периодах развития мышей (рис. 1) были выбраны и обозначены возрастные периоды развития, где возраст до 21-го дня постнатального развития соответствует перинатальному периоду развития, до 42-го дня – ювенильному и пубертатному периодам, до 62-го – пубертатному периоду и началу совершеннолетия (молодое взрослое животное) [24, 209].

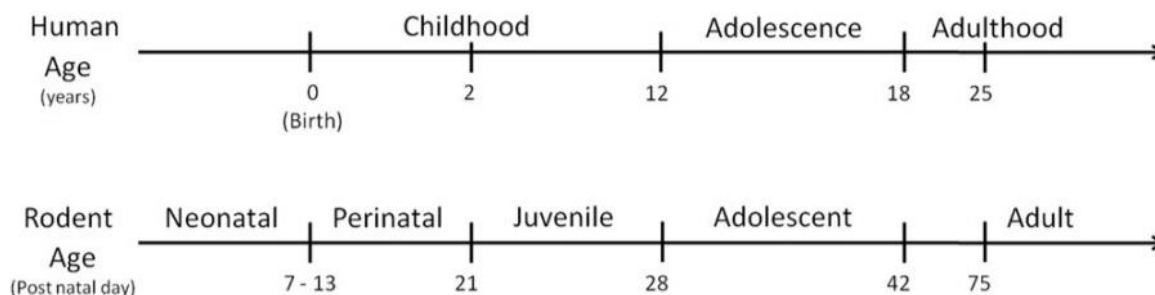


Рисунок 1 – Приблизительное сравнение периодов развития грызунов и человека [209].

Полученное потомство было разделено на 8 групп: две группы «Контроль» – самцы (n=14) и самки (n=16); две группы «Контроль+Фабомотизол» – самцы (n=8) и самки (n=9), которым начиная с P7 до окончания исследования (максимально до P64) ежедневно вводили фаботизол перорально (10 мг/кг); две группы «ФВС» – самцы (n=15) и самки (n=22) с фетальным вальпроатным синдромом (ФВС), рожденные от мышей, которым в период беременности вводили ВПК; и две опытные группы «ФВС+Фабомотизол» – самцы (n=15) и самки (n=16) с ФВС, которым начиная с P7 до окончания исследования (максимально до P64) ежедневно вводили фаботизол перорально (10 мг/кг). Животные контрольных групп с P7 до окончания исследования (максимально до P64) ежедневно перорально получали дистиллированную воду в эквивалентном объеме (0,1 мл на 10 г веса).

2.5. Методы исследования

С потомством мышей BALB/c, пренатально получавших ВПК, проводили ряд стандартизированных неврологических и поведенческих тестов, позволяющих оценить: развитие ЦНС, физическое развитие, двигательную и ориентировочную активность, социальное и видовое поведение, стереотипию, тревожность, способность к обучению и переобучению (табл. 1).

2.5.1. Исследование мышат линии BALB/c с ФВС в перинатальном периоде

Состояние мышат линии BALB/c в гнездовом периоде изучали с P6 по P14, оценивая их физическое развитие, скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов, эмоционально-двигательное поведение и точную координацию при помощи батареи тестов детского возраста (Табл. 1) [143, 187, 286, 320]. Для оценки физического развития мышат начиная с 5 дня постнатального развития ежедневно взвешивали, а с P11 по P14 отслеживали их прозревание, выставя по 1 баллу за каждый открытый глаз [275].

Таблица 1 – Последовательность экспериментальных процедур у мышей BALB/c с ФВС

Экспериментальные процедуры	Возраст, (P)
Тесты, оцениваемые в гнездовом периоде:	
«переворот на плоскости»	P6 - P10
«избегание обрыва»	P7 - P10
«отрицательный геотаксис»	P7 - P12
«переворот в воздухе»	P10 - P14
«веревочка»	P10 - P13
«вздрагивание на хлопок»	P10 - P14
ушной рефлекс	P10 - P14
«предпочтение материнского запаха»	P14
Тесты, проводимые в раннем пубертатном периоде:	
«закрытый крестообразный лабиринт»	P31
«квадратное малое открытое поле»	P32
«перегородка»	P39
«автогруминг»	P41
Тесты, проводимые в пубертатном и молодом взрослом периодах:	
«водный лабиринт Морриса»	P47-51
«социальное взаимодействие»	P52-P55
«социальное узнавание»	
«построение гнезда»	P56-P57
«закапывание шариков»	P57-P58
«Y-образный лабиринт с аверсивным запахом»	P61-P62

Способность поддерживать позу изучали при помощи тестов «переворот на плоскости», «отрицательный геотаксис» и «избегание обрыва». Рефлекс переворачивания на плоскости (рис. 2) оценивали в период с P6 по P10 – мышонка клали на спину и отмечали время, за которое он перевернется на все четыре лапы [320]. Максимальное время наблюдения составляло 30 с.

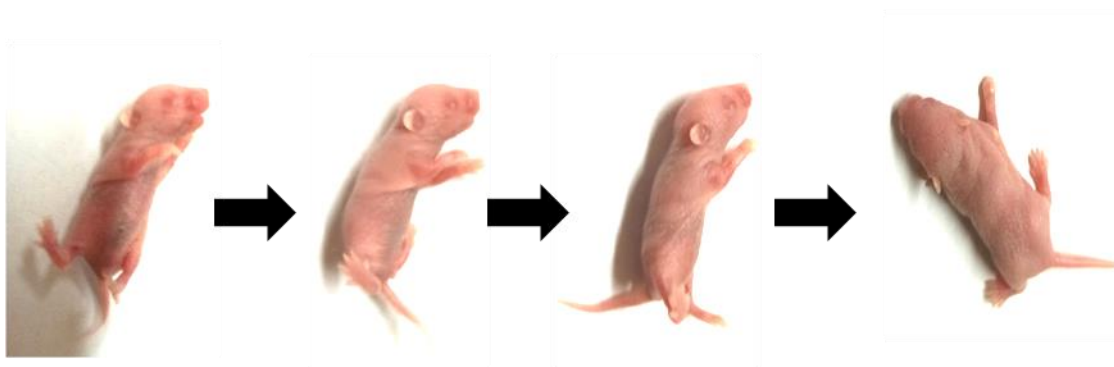


Рисунок 2 – Тест «переворот на плоскости».

Тест «избегания обрыва» (рис. 3) проводили с P7 по P10 [143]. Мышь располагали на краю коробки с гладкой поверхностью таким образом, чтобы пальцы передних лап и голова свисали над её краем и в течение 30 с фиксировали латентное время поворота или отползания от края коробки и число животных, выполнивших задачу.

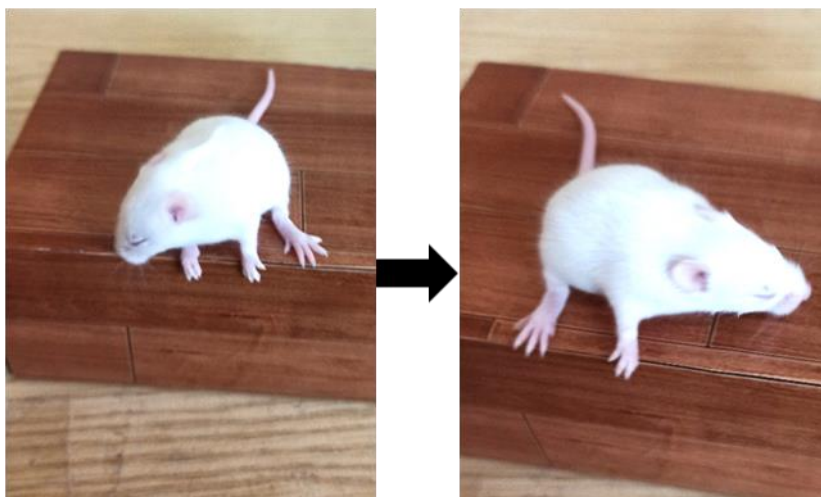


Рисунок 3 – Тест «избегание обрыва».

Врожденная постуральная реакция грызунов на поворот на 180° из положения "головой вниз" в положение "головой вверх" на наклонной плоскости появляется у здоровых мышат уже на второй неделе жизни и считается тестом золотого стандарта для оценки рефлекторного развития, моторики, вестибулярного лабиринта и целостности мозжечка [187]. Тест «отрицательный геотаксис» (рис. 4) проводили с P7 по P12 [320]. Мышь помещали на наклонную под 45° сетку длиной 30 см, головой по направлению со склона, и в течение 30 с фиксировали время поворота животного в направлении вверх по склону.

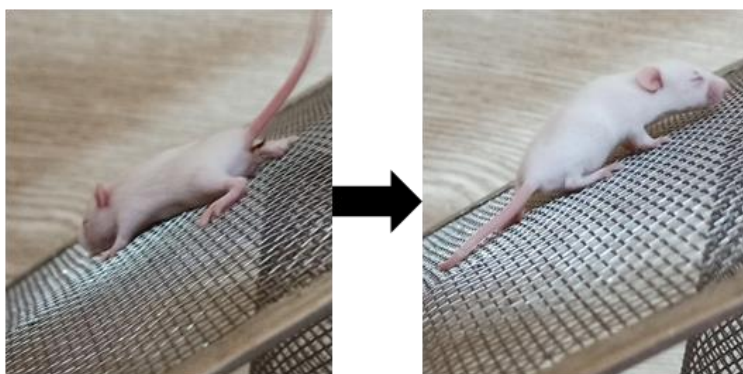


Рисунок 4 – Тест «Отрицательный геотаксис».

Тест «переворот в воздухе», отражающий степень созревания подкорковых структур, проводили с P10 по P14 [129, 286]. Мышь удерживали за голову и таз, головой вверх, на расстоянии 30 см над мягкой поверхностью, после чего отпускали. Попытка считалась успешной, если мышь приземлялась на все четыре лапы. Фиксировали количество успешных попыток и число мышат, успешно выполнивших 3 попытки.

Тест «Веребочка» проводили с P10 по P13 [143]. Мышь подвешивали за передние лапы на горизонтально натянутой веревочке диаметром 1 мм, расположенной на расстоянии 30 см над мягкой поверхностью, и в течение 30 с фиксировали время удержания на ней.

Тест «вздрагивание на хлопок» проводили с P10 по P14 [143]. На расстоянии 15 см от мыши осуществляли одиночный хлопок в ладоши и фиксировали наличие или отсутствие вздрагивания. Ушной рефлекс (рис. 5) тестировали с P10 по P14 [143] проводя по внутренней поверхности уха нитью и фиксируя ответную реакцию – отдергивание уха.



Рисунок 5 – Исследование ушного рефлекса.

Тест «предпочтение материнского запаха» позволяет оценить способность мышат распознавать запах гнезда, который является для них социально-значимым фактором. Тестирование проводили на P14 [187]. Мышат помещали в тестовую клетку Т/ЗС, одна треть которой была заполнена на глубину 3 см опилками из «домашней» клетки, центральная – чистыми опилками, а другая – опилками из «чужой» клетки. Каждой мыши предъявляли три 1-минутных посадки с интервалом 10 с. При каждой посадке мышей помещали в центральную часть клетки с чистыми опилками, причем при первой посадке их помещали головой к боковой стенке клетки, при второй – головой к опилкам с запахом гнезда и при третьей – головой по направлению к опилкам из «чужой» клетки. Фиксировали продолжительность нахождения мышат в секциях клетки во время каждой попытки.

2.5.2. Тест «закрытый крестообразный лабиринт»

Установка «закрытый крестообразный лабиринт» (TS0605-1, «НПК «Открытая Наука») предназначена для оценки структуры исследовательского поведения грызунов и состоит из 4-ех закрытых тупиковых отсеков (рукавов) размером 12×12×12 см, соединявшихся между собой центральным отсеком размером 7×7 см [27]. Мышь помещали в центральный отсек, позволяя свободно перемещаться и регистрировали «длину» первого и, при наличии, второго циклов патрулирования (т.е. поочередного посещения всех его четырех отсеков хотя бы один раз), исчисляемую числом заходов в тупики; чем меньше данный показатель, тем больше

эффективность патрулирования; а также время, необходимое для совершения 13 заходов в рукава лабиринта.

2.5.3. Тест «квадратное открытое поле»

Тест проводили в течение 10 минут в квадратном открытом поле без отверстий размерами 30 см х 30 см, разделенном на 9 равных квадратов [27]. Исследуемое животное помещали в центр, фиксировали число посещенных квадратов (горизонтальная активность), углов, стоек, число эпизодов груминга и его продолжительность.

2.5.4. Тест «перегородка»

Тест проводили в установке длиной 30 см, шириной 12 см со стенками высотой 12 см, разделенной на 2 равных отсека прозрачной перфорированной (отверстия по 5 мм в диаметре) перегородкой [200]. Мышь помещали на 5 минут в один из отсеков установки (период адаптации), после чего в альтернативный отсек на 5 минут помещали знакомую мышь того же возраста и пола, а затем, на 5 минут – незнакомую взрослую мышь (5-6 месяцев) того же пола. Фиксировали число и время контактов испытуемого животного с перфорированной перегородкой при наличии объектов за ней.

2.5.5. Тест «автогруминг»

Испытуемую мышь помещали в центр клетки формата Т/2А, аналогичной клетке, в которой мышь содержалась. С целью изучения горизонтальной активности пол клетки был разделен на 6 равных квадрантов. За время исследования фиксировались горизонтальная активность (путем подсчета посещенных квадрантов), количество стоек, количество и продолжительность эпизодов груминга [179].

2.5.6. Тест «открытое поле со сменой освещенности»

Тест «открытое поле» является моделью слабого стресса у грызунов [23]. В исследовании использовали установку «открытое поле» (TS0501-M, ООО НПК «Открытая Наука», Россия) [27]. Мышь помещали в центр поля и регистрировали ее поведение в течение 5-и минут в условиях сменной освещенности: 3 минуты – ярко освещенное поле (источник света: лампа накаливания общего назначения напряжением 230 В, мощностью 40 Вт, расположенная над центром поля на высоте 95-100 см), 1 минута – темнота (включали красную светодиодную ленту, 12 В, закрепленную по верхнему борту установки) и 1 минута – вновь ярко освещенное поле. Фиксировали число перемещений по периферии, в прецентральной (2/3 поля) и центральной зонах поля, продолжительность нахождения в центре поля, число

вертикальных стоек, заглядываний в отверстия в полу установки (норки), число дефекаций и эпизодов груминга.

2.5.7. Тест «водный лабиринт Морриса»

При обучении пространственному навыку в «водном лабиринте Морриса» [241] платформу располагали в одном и том же квадранте, причем в первый день опыта она была на 0,5 см выше, а в дальнейшем – на 0,5 см ниже уровня воды. Мышь размещали на платформе на 20 с, после чего предьявляли 4 попытки по 60 с каждая (с интервалом 20-25 с) для поиска платформы с разных позиций из трех свободных квадрантов. Фиксировали латентное время (ЛВ) нахождения платформы (при неудачной попытке записывали 60 с) и число результативных попыток её поиска. Воспроизведение навыка проводили через 48 ч после обучения: платформу убирали, и в течение 1 мин регистрировали время нахождения мыши в целевом квадранте. Еще через 48 ч платформу помещали в диагонально противоположную часть бассейна и проводили процедуру реверсивного обучения (2 дня), и затем, через 48 ч – воспроизведения навыка.

2.5.8. Тесты «социальное взаимодействие» и «социальное узнавание»

Тесты «социальное взаимодействие» и «социальное узнавание» [63, 101] проводили в акриловой установке, представляющей собой камеру с прозрачными стенками длиной 60 см, шириной 25 см и высотой 30 см, поделенной прозрачными перегородками с дверцами на три равных отсека. Тестируемое животное помещают в центральный отсек установки и в течение 10 мин позволяют свободно перемещаться по ней, затем животное блокируют в центральном отсеке, а в крайних размещают объекты: в один – незнакомую мышь того же пола и возраста, что и тестируемое животное, прикрытое цилиндром со стенками из металлической сетки (11 см в высоту и 9 см в диаметре), а в другой – новый несоциальный объект (вариант – пустой цилиндр). Тестирование проводят в течение 10 минут, регистрируя продолжительность нахождения мыши в отсеке с социально значимым или незначимым объектами; продолжительность обнюхивания («контакта») социального объекта (подход тестируемой мыши на 1 см и ближе к цилиндру с новой мышью); число заходов в отсеки и число «контактных» подходов к социально значимому объекту. По полученным показателям вычисляют коэффициент предпочтения социального объекта по формуле: $K = B / (A + B)$, где А – время нахождения (или контакта) мыши в отсеке с несоциальным объектом и В – время нахождения (или контакта) мыши в отсеке с социальным объектом. Мыши, у которых время, проведенное в отсеках с разными по социальной значимости объектами, статистически не отличалось, или время, проведенное в отсеке с несоциальным объектом, было больше, чем в

отсеке с социальным объектом, определялись как мыши с утратой общительности и дефицитом социального взаимодействия, что характерно для РАС.

По окончании данного этапа проводят тест на «социальное узнавание»: тестируемое животное блокируют в центральном отсеке, и несоциальный объект заменяют на 2-ю новую незнакомую мышь, того же пола, линии и веса, что и первая стимульная мышь. Реакцию на социальную новизну оценивают в течение следующих 10 мин, регистрируя описанные выше показатели.

2.5.9. Тест «построение гнезда»

Тест «построение гнезда» [103, 193] проводили в клетке формата Т/2А, наполненной кукурузными опилками высотой 5 см. За 3 ч до начала эксперимента животных рассаживали индивидуально по клеткам, по истечении которых в клетку помещали спрессованный ватный диск диаметром 5 см. Через 24 часа животных вынимали из клеток. Результаты оценивали по пятибалльной шкале, где 1 балл – более 90% ватного диска не тронут, 2 балла – ватный диск умеренно измельчен (не тронут 50-90%), 3 балла – ватный диск в основном измельчен, но разбросан по клетке, не сформирован в гнездо (не тронут менее 50%, вата занимает более четверти площади пола клетки), 4 балла – идентифицируемое, но плоское гнездо (более 90% диска измельчено, материал собирается в гнездо в пределах четверти площади пола клетки, но гнездо плоское, со стенами ниже половины высоты тела мыши) и 5 баллов – идеальное гнездо (более 90% диска измельчено, гнездо представляет собой кратер, стены которого превышают половину высоты тела мыши).

2.5.10. Тест «закапывание шариков»

Оценку тревожного и стереотипного поведения проводили в тесте «закапывание шариков» [87, 309]. Животных индивидуально размещали в клетках формата Т/2А с кукурузными опилками высотой 5 см, где поверх опилок были равномерно расположены 12 стеклянных шариков диаметром 1 см в виде сетки 3х4. В течение следующего часа каждые 5 минут фиксировали количество закопанных в опилки более чем на 2/3 шариков.

2.5.11. Тест «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом»

Исследование аверсивного запаха проводили в установке «Y-лабиринт» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), выполненной из жесткого поливинилхлорида серого цвета и представляющей собой три одинаковых рукава сходящихся в центре под углом 120 градусов, длиной 32,5 см, шириной 8,5 см и высотой боковых стенок 15 см. В один из 3-х рукавов лабиринта («опасный» (С)) помещали чашку Петри с фильтровальной бумагой размером 1х1

см, смоченной 0,1 мл 1% раствора мочи лисы, а два других рукава (А и Б) оставляли свободными. Мышь сажали в один из свободных рукавов лабиринта и в течение 5 мин регистрировали количество заходов в каждый рукав, продолжительность пребывания в рукавах, количество подходов к источнику аверсивного запаха и длительность его изучения [149]. После каждого тестирования бумагу с запахом обновляли, а ёмкость переставляли в следующий по часовой стрелке рукав.

2.5.12. Тест «откапывание еды»

У лиц с РАС отмечают нарушения обоняния, что может быть отражением патологии нервных узлов, связанных с обонянием, например, обонятельной луковицы и вентральной височной обонятельной коры, имеющих место при этих расстройствах [120]. Предиктором социального дефицита рассматривается обонятельная диссоциация [331].

Тест на откапывание еды (Buried food-finding test) выполнялся согласно Radyushkin с соавторами [231]. Животным в качестве корма на протяжении 4 дней давали шоколадное печенье (2 г/животное) при свободном доступе к воде. Опыт проводили на фоне 12-и часовой пищевой депривации. Мышь помещали в один из концов стандартной домашней клетки, пол которой застилали чистыми опилками высотой 3 см, и с закопанным на другом конце клетки на глубину 1,5 см кусочком шоколадного печенья. Регистрировали латентное время нахождения еды (начало её раскапывания). Продолжительность поиска пищи – не более 2 минут. Для оценки моторной активности и уровня мотивации животного тест повторяли, но кусочек печенья оставляли на поверхности опилок.

2.5.13. Тест «обонятельной дискриминации»

В тесте «обонятельной дискриминации» (Olfactory discrimination test) исследуется поведение животных, направленное на поиск гнезда в условиях предъявления двух обонятельных стимулов [292]. Установка представляет собой стандартную клетку длиной 35 см, шириной 20 см и высотой 15 см, в центре которой проведена линия, а в боковых концах установлены стеклянные чашки Петри диаметром 10 см, одна из которых заполнена опилками из домашней клетки, смена опилок в которой не проводилась в течение 3 дней (запах гнезда), а другая – чистыми опилками (нейтральный запах). Животных индивидуально помещали в центр клетки и измеряли латентное время первого выбора одного из стимулов, определяемое по моменту захода мыши обеими передними лапами в чашку с опилками.

2.5.14. Тест «обонятельной габитуации/дисгабитуации»

Тест обонятельной габитуации/дисгабитуации (Olfactory habituation/dishabituation)

позволяет изучать обонятельное распознавание, предпочтение и привыкание к несоциальным и социальным запахам при их повторном предъявлении [13, 277, 281]. Согласно протоколу [277], мышь перед началом тестирования помещали в стандартную клетку с чистыми опилками на 30 мин. Ватный тампон длиной 15 см смачивали в воде и пропускали через крышку клетки так, чтобы он располагался на высоте 5 см от выстилающих дно клетки опилок. Выполняли по 3 предъявления каждого запаха. При верификации фенотипической модели РАС и изучения влияния фабомотизола на поведение мышей с аутичноподобным фенотипом использовали следующие запахи: нейтральный стимул – дистиллированная вода; несоциальный – разбавленный цветочный запах (экстракт апельсина сладкого или экстракт лимона, 100% натуральное эфирное масло, ООО «Аспера Лтд», разбавленное дистиллированной водой в соотношении 1:100); социальный – моча самцов мышей C57Bl/6 или моча самцов и самок мышей BALB/c. Продолжительность каждого предъявления составляла 2 минуты. Регистрировали суммарное число реакций животных, которые включали подходы к тампону и взаимодействие с ним, а именно, повороты головы мыши в сторону стимула при нахождении на расстоянии не более 2 см от него, обнюхивание, залезание, жевание тампона. Кроме того, фиксировали число вставаний мышей на задние лапы и закапываний в подстилку.

2.5.15. Тест «обследования отверстий»

Тест обследования отверстий (Hole-board exploration) [265] проводили в инфракрасном актометре фирмы Panlab, Испания (модель LE 8825 IR Motor Activity Monitor V 08/05/120). Установка представляет собой квадрат, пол которой разделен на 16 квадратов с 16 одинаковыми отверстиями. Отверстия были пронумерованы и подразделены на угловые, пристенные и центральные (рис. 6).

стена			
1	5	6	2
12	13	14	7
11	16	15	8
4	10	9	3
пространство перед столом			

1, 2, 3, 4 – угловые отверстия;
5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 – пристенные отверстия;
13, 14, 15, 16 – отверстия в центре установки.

Рисунок 6 – Нумерация отверстий пола актометра.

В течение 10 минут регистрировали общее число перемещений мыши в установке, число заглядываний (Nose poke) в отверстия, а также продолжительности пребывания в угловой и в пристенной зонах установки.

2.5.16. «Т-образный лабиринт с пищевым подкреплением»

Обучение и переобучение животных пространственному навыку проводили в установке Т-лабиринт (TS0701-М, «НПК «Открытая Наука») с положительным подкреплением и в условиях переделки выработанного навыка [241]. За 24 ч до эксперимента у мышей проводили пищевую депривацию. Затем в один из боковых рукавов (Р-1) лабиринта в качестве источника пищи ставили поилку с молоком (0,5%) объемом 2 мл; помещали мышь в стартовый рукав лабиринта, позволяя ей свободно передвигаться до тех пор пока она не совершит 8 выходов из стартового рукава. Процедуру обучения повторяли в течение 3-х дней. На 4-й день поилку переносили в боковой рукав Р-2 (тестировали 6 мин). На 5-й день опыта подкрепление не предъявляли (наблюдали 3 мин). Во всех вариантах опыта фиксировали число и латентное время (ЛВ) заходов мышей в рукава (Р-1, Р-2) и продолжительность нахождения в них.

2.5.17. Определение содержания нейротрансмиттеров в структурах головного мозга

На Р15, Р42 и Р65 мышей линии BALB/c с ФВС декапитировали, структуры мозга (фронтальная кора, гипоталамус, стриатум и гиппокамп) извлекали на льду, замораживали в жидком азоте и взвешивали. Непосредственно перед определением содержания нейротрансмиттеров в структурах мозга животных с ФВС пробы размельчали в гомогенизаторе Поттера (тефлон-стекло) в 1 мл 0,1 н HClO_4 с добавлением 3,4-диоксибензиламина (0,5 нмоль/мл) в качестве внутреннего стандарта, центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин. Супернатант использовали для определения моноаминов и их метаболитов: NA (норадреналин), DA, DOPAC (3,4-диокси(гидрокси)фенилуксусная кислота), HVA (гомованилиновая кислота), 3-MT (3-метилтирамин), 5-HT, 5-HIAA (5-окси(гидрокси)индолуксусная кислота). Содержание моноаминов и их метаболитов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД) на хроматографе LC-304T (BAS, США) с аналитической колонкой ReproSil-Pur ODS (C18, 100x4 мм, 3 мкм) (Dr. Maisch, Германия), при скорости элюции подвижной фазы 1,0 мл/мин и давлении до 200 атм. Мобильная фаза состояла из: 0.1 М цитратно-фосфатного буфера, содержащего 1.1 mM октансульфоновой кислоты, 0.1 mM ЭДТА и 9% ацетонитрила (pH 3.0). Измерение проводили с помощью электрохимического детектора LC-4B (BAS США) на двойном стеклоугольном электроде (+0.85 V) против электрода сравнения Ag/AgCl. Регистрацию образцов проводили с применением аппаратно-программного комплекса МУЛЬТИХРОМ 1,5 («Амперсенд»). Все использовавшиеся для анализа реактивы были высокой степени чистоты: о.с.ч. или analytical grade.

2.6. Статистическая обработка

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 $\pm$ ошибка среднего (Mean $\pm$ SEM), или в виде данных, выраженных в %. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Изучение особенностей поведения мышей линии BALB/c в ряде поведенческих тестов, применяемых для оценки симптомов РАС.

Для экспериментального изучения РАС применяются генетически модифицированные грызуны, которые, однако, позволяют анализировать лишь отдельные дисфункции. Наряду с этим, используются модели идиопатического РАС – отобранные по фенотипу мыши инбредных линий, с хорошо воспроизводимыми социальными дефицитами и стереотипным поведением, а также рядом сопряженных с РАС симптомов [191]. Среди последних рассматриваются мыши линии BALB/c, демонстрирующие признаки поведения, схожие с РАС, в числе которых низкий уровень социальных взаимоотношений, снижение различных аспектов материнского поведения, высокий уровень тревожности, межсамцовой агрессии, и, кроме того, большая восприимчивость к амфетамин- или метамфетамин-индуцированной аутоагрессии, которая уменьшается при лечении рisperидоном [79].

Наличие дефицита социального взаимодействия у самцов мышей BALB/c изучали в трехкамерной установке [242], оценивая предпочтение животного к социальному и несocialному объектам по числу и длительности контактов с ними. Мыши, у которых время (или контакт), проведенное в отсеках с разными по социальной значимости объектами, не отличалось, или время, проведенное в отсеке с несocialным объектом, было больше, чем в отсеке с социальным объектом, определялись как мыши с утратой общительности и дефицитом социального взаимодействия, что характерно для РАС.

Как следует из результатов, представленных в таблице 2, мыши инбредной линии C57Bl/6, служившие контролем для мышей BALB/c, в тесте социального взаимодействия проявляли себя «как высокообщительные» животные: средняя длительность нахождения в отсеке с незнакомой стимульной мышью (социально значимым объектом – аутбредной мышью-самцом), была на 61,3% больше, чем в отсеке с социально незначимым объектом; а продолжительность обнюхивания стимульной мыши была на 32,0% больше, чем в группе животных линии BALB/c. При этом мыши линии C57Bl/6 в 1,54 раза чаще посещали отсек с социально значимым объектом, чем противоположный отсек, и совершали в 1,25 раза больше подходов к социальному объекту на расстоянии менее 1 см, чем мыши BALB/c (табл. 2).

Оценка уровня социального взаимодействия (общительности), вычисленная по соотношению времени, проведенному мышами группы C57Bl/6 в отсеке, содержащем стимульную мышь, ко времени в 2-х различных по социальной значимости отсеках, выявила предпочтение мышами этой линии социального объекта несocialному.

Таблица 2 – Поведение мышей линий BALB/c и C57Bl/6 в тесте «социальное взаимодействие»
Mean $\pm$ SEM

Регистрируемые показатели / Группа, число животных		Мыши линии BALB/c, n=12	Мыши линии C57Bl/6, n=10
Продолжительность нахождения в отсеке, с	центральном	96,8 $\pm$ 6,9	70,0 $\pm$ 2,3*
	с социальным объектом	124,9 $\pm$ 12,2	179,6 $\pm$ 12,3*
	с несоциальным объектом	141,9 $\pm$ 15,7	110,7 $\pm$ 8,6#
Предпочтение отсека с социальным объектом по времени нахождения в нем, %: $[T_{co}/(T_{co}+T_{nco})] \times 100$		46,0%	62,0%
Длительность контакта (обнюхивания) социального объекта, с		40,4 $\pm$ 5,1	59,8 $\pm$ 8,1*
Число заходов в отсек, ед	с социальным объектом	16,6 $\pm$ 0,9	24,9 $\pm$ 3,3*
	с несоциальным объектом	7,7 $\pm$ 0,8#	13,5 $\pm$ 1,1*#
Число подходов к социальному объекту, ед.		11,8 $\pm$ 0,7	14,7 $\pm$ 1,2*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой мышей BALB/c (межгрупповое сравнение); # – $p < 0,05$ по сравнению с показателем в отсеке с социальным объектом (внутригрупповое сравнение); Т – продолжительность нахождения в отсеке, «со» – социальный объект, «нсо» – несоциальный объект.

Мыши линии BALB/c предпочитали отсек с несоциальным объектом, находясь в нем на 12,0% дольше, чем в отсеке с социальным объектом (табл. 2). Время обнюхивания незнакомой мыши было в 1,48 раза меньше, чем в группе мышей C57Bl/6. Мыши линии BALB/c осуществляли достоверно меньше заходов в отсеки с объектами по сравнению с животными другой линии, что, по-видимому, объясняется их повышенной тревожностью по сравнению с мышами C57Bl/6 (табл. 2). Показатель общительности в группе мышей BALB/c составил 46,0%, что указывает на отсутствие предпочтения к социальному стимулу.

Таким образом, по результатам данного теста, мыши линии BALB/c определяются как «малообщительные» животные, демонстрирующие низкий уровень социального взаимодействия, что характерно для аномалий поведения при аутизме. Полученные данные находят подтверждение в исследованиях других авторов [241, 330]. Также отмечалось отсутствие реакции у мышей BALB/c, содержащихся в изоляции, на особей тех же линии, возраста и пола, но содержащихся в группе, что указывает на низкую социальную активность этой линии мышей [56].

У лиц с РАС отмечаются нарушения походки и обоняния, которые могут быть отражением патологии мозжечка и нервных узлов, связанных с обонянием, например, обонятельной луковицы и вентральной височной обонятельной коры, имеющих место при этих расстройствах [82]. Поэтому предиктором социального дефицита рассматривается нарушения обонятельной функции.

Для выявления нарушений в обонятельной сфере у мышей линии BALB/c использовали тест «откапывание еды» [265], тест «обонятельной дискриминации» [144], основанные на

поиске гнезда, при предъявлении двух обонятельных стимулов, и тест «обонятельной габитуации/дисгабитуации», позволяющий оценить обонятельное распознавание, предпочтение и привыкание к несоциальным и социальным запахам при их повторном предъявлении [85, 277, 330].

В тесте «откапывание еды» мыши линии BALB/c ($n=10$) в 1,7 раза дольше искали закопанную под опилками еду в сравнении с мышами SHK ($n=12$). При этом в условиях визуализации еды, латентное время подхода к ней у животных разных линий не отличалось, что свидетельствует о равном уровне мотивации и отсутствии двигательных различий (рис. 7). Полученные данные коррелируют с клиническими наблюдениями, подтверждающими сниженные социальные реакции на источники запаха и вкуса у пациентов с РАС по сравнению со здоровыми людьми [265].

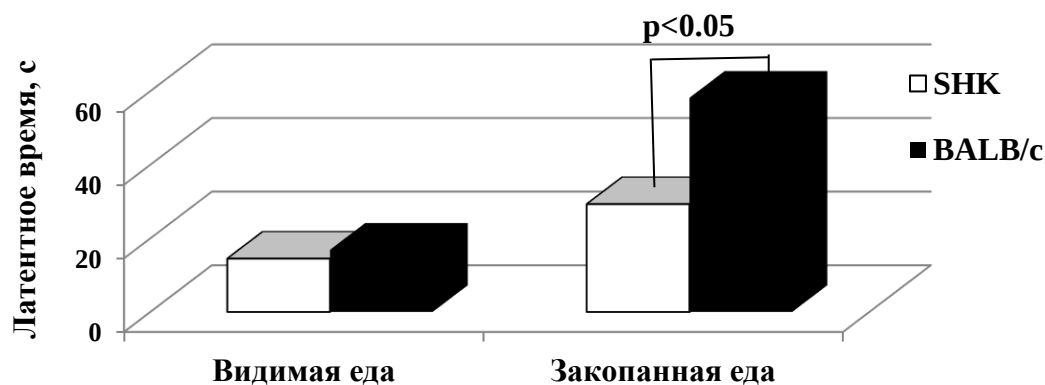


Рисунок 7 – Продолжительность поиска еды у мышей BALB/c в тесте «откапывание еды». Примечание: данные представлены как Mean $\pm$ SEM.

В тесте «обонятельной дискриминации» мыши линии BALB/c тратили в 1,6 раз больше времени на поиск «гнезда», при этом к опилкам с нейтральным запахом они подходили в 1,4 раза быстрее, чем мыши SHK. При внутригрупповом сравнении различий между латентным временем выбора нейтральных опилок и опилок из домашней клетки у мыши линии 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 (табл. 3).

Кроме того, примерно третья часть мышей линии BALB/c при предоставлении на выбор двух обонятельных стимулов предпочитала нейтральные опилки, тогда как в группе мышей SHK этот выбор имел прямо противоположный характер (табл. 3). Полученные данные свидетельствуют о возможном нарушении у мышей линии BALB/c способности интерпретировать запахи и, особенно, о стойком избегании социальных стимулов, включая запах домашней клетки.

Таблица 3 – Поведение мышей линии BALB/c и мышей SHK в тесте обонятельной дискриминации, Mean $\pm$ SEM

Группа, число животных	Латентное время выбора обонятельного стимула, с		Число мышей, выбравших обонятельный стимул, %	
	Нейтральный запах	Запах «гнезда»	Нейтральный запах	Запах «гнезда»
Мыши линии BALB/c, n=29	70,00 $\pm$ 8,57*	86,17 $\pm$ 8,97*	65,52 $\pm$ 8,98**	34,48 $\pm$ 8,98**#
Мыши SHK, n=31	98,39 $\pm$ 7,02	54,03 $\pm$ 8,48##	32,26 $\pm$ 8,53	67,74 $\pm$ 8,53##

Примечание: * (**) – $p < 0,05$ (0,01) достоверность различий относительно группы мышей SHK; # (##) – $p < 0,05$ (0,01) достоверность различий относительно параметров «нейтрального запаха» (внутригрупповое сравнение).

В тесте «обонятельной габитуации/дисгабитуации» характерной чертой поведения интактных аутбредных мышей SHK было четкое распознавание нового запаха, что выражалось в повышенной реакции мышей на тампон с нанесенным на него запахом при первом предъявлении каждого обонятельного стимула и в быстром привыкании к запаху при его повторном предъявлении. Так, при первом тестировании запаха «Апельсин» у аутбредных мышей отмечено увеличение на 66,0% реакций на обонятельный стимул по сравнению с предшествующим 3-им предъявлением нейтрального запаха «Вода». Еще более выраженной была реакция аутбредных мышей при первом предъявлении социального обонятельного стимула относительно предшествующего запаха «Апельсин»: увеличение комплекса реакций мышей на ватный тампон, пропитанный новым социальным запахом, составило 84,7% (табл. 4).

Таблица 4 – Реакции на обонятельные стимулы у мышей BALB/c и SHK, Mean $\pm$ SEM

Обонятельные стимулы	Очередность предъявления запаха	Реакция на обонятельный стимул, ед.	
		мыши SHK, n=9	мыши BALB/c, n=16
Вода	1	12,90 $\pm$ 1,50	10,00 $\pm$ 0,91
	2	4,00 $\pm$ 0,79*	8,00 $\pm$ 1,06
	3	1,70 $\pm$ 0,48#	6,40 $\pm$ 0,71
Апельсин	1	5,30 $\pm$ 1,29	3,50 $\pm$ 0,96
	2	2,00 $\pm$ 0,38*	3,20 $\pm$ 0,81
	3	2,00 $\pm$ 0,66	2,10 $\pm$ 0,81
Моча мышей C57Bl/6	1	13,10 $\pm$ 2,67	10,80 $\pm$ 1,36
	2	3,90 $\pm$ 1,17*	6,90 $\pm$ 0,79
	3	4,00 $\pm$ 1,51	7,80 $\pm$ 1,34

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверность различий относительно значений при 1-м предъявлении того же стимула; # – $p < 0,05$ достоверность различий относительно значений при 2-м предъявлении того же стимула.

У мышей линии BALB/c при предъявлении незнакомого несоциального цитрусового запаха реакция на новый стимул была ниже, чем на третье предъявление нейтрального запаха

«Вода» (табл. 4), что, возможно, связано с некоторым нарушением процесса распознавания запахов и с повышенной тревожностью мышей при реакции на новизну. Однако, предъявление стимула «Запах мышей C57Bl/6» вызвало повышение активности тестируемых животных, хотя и в меньшей степени, чем в группе аутбредных животных.

Анализ динамики реагирования мышей SHK на повторное предъявление одинаковых запахов показал достоверное снижение реакции на них, тогда как у мышей линии BALB/c выраженность адаптации к обонятельным стимулам уменьшалась. Так, при третьем предъявлении запаха «Вода» снижение реакции мышей линии BALB/c относительно первого его предъявления составило 36,0%, тогда как в группе аутбредных мышей – 86,8%. Реакция мышей BALB/c на цитрусовый запах, при его последующих предъявлениях, относительно его первой демонстрации практически не менялась. Уменьшение ответной реакции на стимул «Моча мышей C57Bl/6» у мышей линии BALB/c относительно первого его предъявления также было незначительным и составило при его третьем предъявлении всего 27,8% против 69,5% в группе мышей SHK (табл. 4).

Таким образом, у мышей BALB/c выявлена выраженная обонятельная дисгабитуация как на социально значимые, так и незначимые запахи. Однако наличие разных поведенческих реакций на социальные и не социальные запахи подтверждает способность данной линии мышей корректно различать разные стимулы, что приводит к заключению о превалировании нарушений социального, а не ольфакторного характера.

Одним из проявлений тревожного и стереотипного поведения мышей, регистрируемого в данном тесте, является число актов закапываний в подстилку. Установлено, что показатель числа актов закапываний в подстилку при предъявлении всех видов обонятельных стимулов был выше в группе мышей линии BALB/c по сравнению с интактными аутбредными мышами SHK (табл. 5).

Таблица 5 – Поведение мышей линии BALB/c и мышей SHK в тесте обонятельной габитуации/дисгабитуации (число закапываний в подстилку), Mean $\pm$ SEM

Группа, число животных	Число закапываний в подстилку при предъявлении обонятельного стимула, ед.		
	«Вода»	«Апельсин»	«Моча мышей C57Bl/6»
Мыши линии BALB/c, n=16	6,80 $\pm$ 1,14	5,30 $\pm$ 0,58	3,40 $\pm$ 0,94
Мыши SHK, n=9	3,00 $\pm$ 0,87*	1,40 $\pm$ 0,61*	1,00 $\pm$ 0,58

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверность различий относительно значений группы мышей линии BALB/c.

Исходя из того, что различий между реакциями мышей BALB/c (акты закапывания) на предъявление разных по значимости стимулов не было, и, кроме того, реакция на наиболее

значимый стимул – социальный запах, была менее всего выражена и была в 2 раза меньше, чем при контакте с нейтральным запахом и, в то же время, значимо не отличалась от соответствующей реакции мышей SHK, подобное поведение следует расценивать как повышенную стереотипию и отсутствие интереса к социальному стимулу, а возможно, и как неспособность его распознавания.

Оценку двигательного, ориентировочно-исследовательского и стереотипного поведения мышей линии BALB/c проводили в тесте «обследование отверстий» и в тесте «открытое поле».

В тесте «обследование отверстий» мыши линии BALB/c демонстрировали дефицит исследовательской активности, проявляющийся в уменьшении на 17,4% общего количества заглядываний в отверстия установки по сравнению с группой мышей SHK, при отсутствии различий в общей двигательной активности (табл. 6). Анализ продолжительности нахождения мышей линии BALB/c в угловой, пристенной и центральной зонах установки выявил значимое снижение на 41,4% регистрируемого показателя только в центральной зоне установки, а также уменьшение в 3,1 раза числа заглядываний в отверстия в этой зоне по сравнению с группой аутбредных мышей (табл. 6).

Таблица 6 – Поведение мышей линии BALB/c и мышей SHK в условиях теста «обследование отверстий», Mean $\pm$ SEM

Регистрируемые показатели		Мыши BALB/c, n=15	Мыши SHK, n=10
Локомоторная активность, ед.		1483,5 $\pm$ 107,9	1482,5 $\pm$ 80,2
Общее число заглядываний в отверстия, ед.		65,9 $\pm$ 3,7	79,8 $\pm$ 6,5
Время нахождения в зонах, сек:	Угловая	278,1 $\pm$ 12,5	276,7 $\pm$ 10,5
	пристенная	288,4 $\pm$ 12,1	266,1 $\pm$ 11,1
	центральная	33,5 $\pm$ 6,7	57,2 $\pm$ 8,5*
Количество заглядываний в отверстия, ед.	Угловые	31,3 $\pm$ 2,1	35,3 $\pm$ 3,0
	пристенные	32,1 $\pm$ 2,1	36,7 $\pm$ 3,3
	центральные	2,5 $\pm$ 0,7	7,8 $\pm$ 1,6*

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверность различий относительно группы мышей BALB/c.

Таким образом, в тесте «обследование отверстий» мыши линии BALB/c проявляли себя как высокотревожные животные. Признаков повышенной стереотипии у мышей BALB/c в данном тесте не обнаружено.

Оценка поведения самцов мышей BALB/c в тесте «открытое поле со сменой освещенности» показала, что независимо от предъявляемых условий, животные данной линии демонстрировали низкую двигательную активность как на периферии, так и в прецентральной и центральной части установки по сравнению с мышами C57BL/6 ($p < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о малоактивном, пассивном поведении мышей линии BALB/c и о наличии у них ярко выраженной тревожности (табл. 7).

При сравнении показателей, регистрируемых при ярком освещении установки и в его отсутствии, у мышей BALB/c, в последнем случае, отмечался рост числа перемещений (в среднем на 66,7%) на периферии и в прецентральной части поля (табл. 7). Однако возвращение к яркому освещению установки приводило к снижению на 33,0% активности мышей BALB/c на периферии и к уменьшению числа посещений «опасных» зон (табл. 7). Подобной зависимости поведения от условий освещенности установки не наблюдалось у мышей C57Bl/6, кроме того, после возврата из темноты к яркому освещению мыши данной линии демонстрировали повышение числа выходов в центр поля и уменьшение числа заглядываний в «норки» (табл. 7).

Таблица 7 – Поведение мышей линии BALB/c и C57Bl/6 в условиях теста «открытое поле со сменой освещенности», Mean $\pm$ SEM

Показатели / группы, число животных в группе			BALB/c, n=9	C57Bl/6, n=8
Яркий свет 3 мин	Латентное время начала движения		17,9 $\pm$ 4,7	3,8 $\pm$ 0,8*
	Горизонтальная активность	Периферия	5,1 $\pm$ 1,0	18,6 $\pm$ 1,9**
		2/3 поля	0,6 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,7**
		Выходы в центр	0,0 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,1**
	Количество заглядываний в отверстия (норки)		4,1 $\pm$ 0,4	7,3 $\pm$ 0,5**
Темнота 1 мин	Горизонтальная активность	Периферия	9,2 $\pm$ 1,8&	19,0 $\pm$ 2,1**
		2/3 поля	1,0 $\pm$ 0,5	7,5 $\pm$ 1,4**
		Выходы в центр	0,1 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,4**#
	Количество заглядываний в отверстия (норки)		4,5 $\pm$ 0,5	6,5 $\pm$ 0,2*
Яркий свет 1 мин	Горизонтальная активность	Периферия	6,2 $\pm$ 1,3	14,0 $\pm$ 1,7**
		2/3 поля	0,3 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 1,0**
		Выходы в центр	0,0 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,6**#
	Количество заглядываний в отверстия (норки)		4,3 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 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).

Согласно данным литературы, у мышей BALB/c, так же как и при PAC у человека, обнаружено снижение концентрации серотонина в мозге, увеличение объема и массы головного мозга, прежде всего, размеров гиппокампа, мозжечка, изменение размеров амигдалы, недоразвитость крупных структур белого вещества мозга – мозолистого тела и внутренней капсулы [60, 79, 241], уменьшение лобных и теменно-височных долей [120]. Установлено, что у мышей BALB/c реакция страха сопровождается падением связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМК_A-рецептора [331], и также показано длительное снижение уровня BDNF в структурах мозга при стрессовом ответе, что подтверждает недостаточность адаптивных механизмов у мышей данной линии [231]. У эмбрионов мышей BALB/c замедлен рост гиппокампальной коммиссуры, которая, однако, достигает нормальных размеров во взрослом возрасте [79, 241]. Указанные фенотипические признаки мышей BALB/c в

определенной степени сходны с таковыми у мышей линии BTBR, широко используемых в качестве модели РАС [120, 281, 292].

На основании структурного МРТ головного мозга у больных с РАС выявлено увеличение объема и толщины коры, отражающие её незрелость, с атипичными зонами в лобной, височной и теменной долях; двустороннее увеличение объема миндалины у маленьких детей; увеличение общего объема мозжечка, гипоплазия червя, уменьшение объемов серого вещества в дольках червя и в ножках мозжечка; увеличение объемов хвостатого ядра, ненормальные формы структур базальных ядер; уменьшенный общий объем мозолистого тела или увеличенный размер мозолистого тела (особенно при макроцефалии) и другие [13].

Наличие поведенческих и нейроанатомических признаков у мышей BALB/c, сходных с проявлениями РАС у человека [79, 241], позволяет полагать, что данная линия мышей может служить моделью для изучения патогенеза заболевания, по крайней мере, определенного его подтипа, и его фенотипических проявлений, а также для оценки действия возможных средств коррекции различных проявлений РАС.

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

3.2. Изучение действия фабомотизола на особенности поведения мышей линии BALB/c (фенотипическая модель РАС).

Изучение действия фабомотизола в условиях фенотипической (идиопатической) модели РАС проводили на половозрелых мышах-самцах линии BALB/c массой 22-25 г. Фабомотизол вводили внутрь в дозе 10 мг/кг за 40 минут до каждого тестирования. Контрольным животным вводили внутрь дистиллированную воду в эквивалентном объеме (0,1 мл на 10 г веса мыши) в том же режиме.

Оценивали способность препарата оказывать влияние на основные симптомы РАС – нарушения социального взаимодействия, стереотипию, а также коморбидные нарушения, часто сопровождающие данные расстройства: тревожность, дефицит когнитивных и обонятельных функций.

Наличие дефицита социального взаимодействия у самцов мышей BALB/c изучали в трехкамерной установке [34], оценивая предпочтение животного к социальному и несобциальному объектам по числу и длительности контактов с ними.

Согласно результатам, представленным в таблице 8, мыши группы «Контроль» демонстрировали социальный дефицит, что выразилось в отсутствии различий по длительности нахождения животных в отсеках, содержащих разные по социальной значимости объекты, а также близкого контакта с ними (обнюхивания). Данный факт подтверждает фенотипическую особенность мышей линии BALB/c, характеризующуюся низким уровнем социального взаимодействия.

Таблица 8 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c в тесте «социальное взаимодействие», Mean $\pm$ SEM

Регистрируемые показатели / Группа, число животных		Контроль, n=10	Фабомотизол, n=10
Продолжительность нахождения в отсеке, с	с социальным объектом	193,5 $\pm$ 30,9	200,4 $\pm$ 23,2#
	с несобциальным объектом	224,8 $\pm$ 31,1	126,6 $\pm$ 28,2*
Предпочтение социального объекта по продолжительности нахождения в отсеке: $[T_{co}/(T_{co}+T_{nco})] \times 100, \%$		46,3 $\pm$ 5,5	66,9 $\pm$ 7,4*
Длительность контакта (обнюхивания), с	социального объекта	65,8 $\pm$ 11,7	65,9 $\pm$ 8,4
	несобциального объекта	60,7 $\pm$ 7,4	41,5 $\pm$ 9,5
Предпочтение социального объекта по продолжительности контакта: $[T_{co}/(T_{co}+T_{nco})] \times 100, \%$		52,4 $\pm$ 9,5	61,3 $\pm$ 8,8
Число заходов в отсек, ед	с социальным объектом	7,4 $\pm$ 0,6	7,3 $\pm$ 1,4
	с несобциальным объектом	7,8 $\pm$ 0,9	5,3 $\pm$ 1,4
Число подходов, ед.	к социальному объекту	12,0 $\pm$ 1,7	11,3 $\pm$ 1,0
	к несобциальному объекту	15,2 $\pm$ 1,5	8,3 $\pm$ 2,0*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # – $p < 0,05$ по сравнению с продолжительностью нахождения в отсеке с несобциальным объектом (внутригрупповое сравнение).

Фабомотизол увеличил на 36,8% продолжительность нахождения тестируемых мышей в отсеке с социальным объектом по сравнению с отсеком, содержащем несоциальный объект, что также выразилось в достоверном росте уровня предпочтения социального объекта по длительности нахождения в отсеке с ним по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 8). На фоне введения фабомотизола на 27,4% увеличилось число заходов мышей в отсек с социальным объектом по сравнению с противоположным отсеком, на 45,4% ($p < 0,05$) число контактных подходов к социальному объекту по сравнению с группой «Контроль» (табл. 8).

Таким образом, результаты проведенного эксперимента свидетельствуют о способности фабомотизола улучшать социальное взаимодействие у мышей линии BALB/c.

Как было сказано выше, классическими проявлениями РАС являются снижение социального взаимодействия, коммуникаций, ограниченное стереотипное поведение с наличием четких алгоритмов и рутинных привычек, крайне устойчивых к изменениям среды [233]. «Высокоуровневым» проявлением стереотипного поведения является когнитивная ригидность, которая заключается в затруднении смены ментальных установок и наличии навязчивых интересов [190]. У больных с РАС наблюдается нарушение обучения в задаче, связанной с пространственным переносом, и тенденция к возврату к ранее освоенным когнитивным стратегиям с увеличением тяжести стереотипного поведения [233].

Когнитивную ригидность изучали при использовании методик с вынужденным переобучением животных, когда меняются условия среды, а задание остается прежним [190]. Животных обучали находить пищу или платформу в тестах «Т-образный лабиринт» и «водный лабиринт Морриса», а затем проводили реверсию обучения, меняя локализацию подкрепления [241].

Фабомотизол не влиял на обучение мышей линии BALB/c в «Т-образном лабиринте с пищевым подкреплением», однако уменьшал в 2 раза ($10,7 \pm 3,1$ vs. $21,7 \pm 7,1$ в контроле) латентное время захода в рукав с подкреплением (Р-1) на 3-й день обучения, при этом, 75% животных выбирали «правильный» рукав, тогда как в контроле таких животных было только 50%. На 4-й день опыта, при переносе поилки в ранее пустой рукав (Р-2), 80% животных, получавших фабомотизол, при первом выходе из стартового рукава выбирали рукав Р-1, где ранее в течение 3-х дней обучения располагалась поилка с подкреплением, тогда как в контрольной группе таких животных было на 24,4% меньше. При этом на фоне препарата скорость принятия решения о выборе рукава была в 3,9 раза меньше, чем в контроле (табл. 9).

Мыши группы «Фабомотизол» после обнаружения поилки с молоком в новом рукаве (Р-2) демонстрировали выраженное предпочтение к нему, выражающееся в увеличении в 2,5 раза длительности нахождения в Р-2, относительно Р-1 (табл. 9). Полученные данные

свидетельствуют о способности фабомотизола улучшать пространственную память и облегчать процесс переобучения.

Таблица 9 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c в Т-образном лабиринте при переобучении навыка (4-й день опыта), Mean±SEM

Группа, число животных	ЛВ захода в рукав (P-1), с	Продолжительность нахождения в рукаве, с	
		без подкрепления (P-1)	с подкреплением (P-2)
Контроль, n=10	21,3±4,9	122,7± 23,0	194,7±21,1
Фабомотизол, n=10	5,5±1,6*	97,4±15,2	238,2 ±23,4#

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # – $p<0,05$ по сравнению с рукавом P-1; ЛВ – латентное время.

На 5-й день опыта, в условиях отсутствия подкрепления, мыши контрольной группы предпочитали рукав, в котором накануне располагалась поилка: латентное время захода в P-2 было в 2,7 раза меньше, а длительность нахождения в нём – в 1,8 раза больше по сравнению с показателями, регистрируемыми в P-1 (табл. 10).

Животные, получавшие фабомотизол, также предпочитали рукав P-2, в котором накануне находилось пищевое подкрепление, что выразилось в значимом увеличении в 1,4 раза длительности нахождения в нём, в сравнении с P-1, но латентное время захода в оба боковых рукава P-2 и P-1 не отличалось; при этом, число заходов в боковые рукава и в стартовый рукав было в 1,5 раз и в 1,6 раз больше, соответственно, чем в контроле.

Таблица 10 – Влияние фабомотизола на поведение мышей линии BALB/c в Т-образном лабиринте при отсутствии подкрепления (5 день эксперимента), Mean±SEM

Показатель / Группа, число животных	Контроль, n=10	Фабомотизол, n=10
ЛВ захода в рукав P-1, с	18,0±4,10	7,9±3,46*
ЛВ захода в рукав P-2, с	6,7±0,73#	7,9±1,73
Время нахождения в рукаве P-1, с	46,5±5,1	52,8±4,8
Время нахождения в рукаве P-2, с	83,7±9,2#	76,4±6,6#
Общее число заходов в боковые рукава, ед.	8,8±0,7	12,8±1,7*
Число заходов в стартовый рукав, ед.	4,3±0,4	7,0±0,7*

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # – $p<0,05$ по сравнению с другим рукавом; ЛВ – латентное время.

Отмеченная повышенная двигательная активность мышей BALB/c на фоне введения фабомотизола, очевидно, связана с его анксиолитическим действием, что стимулирует поисковое поведение, направленное на активное решение новой задачи, и, следовательно, на увеличение адаптивности к меняющимся условиям среды в противоположность животным контрольной группы.

Фабомотизол не влиял на процесс обучения и воспроизведение пространственного навыка у мышей BALB/c в тесте «водный лабиринт Морриса». Однако в первый день

реверсивного обучения, после переноса платформы в противоположный квадрант лабиринта, у мышей, получавших фабомотизол, время поиска платформы снизилось на 46%, а количество результативных попыток увеличилось на 56,5% по сравнению с контролем. На второй день переобучения эффект фабомотизола был еще более выраженным: мыши находили платформу в 100% случаев (60% – в контрольной группе), и время, затрачиваемое на поиск платформы, было на 65,5% меньше показателя контрольной группы (табл. 11). Фабомотизол увеличивал на 86,8% длительность пребывания мышей в новом целевом квадранте при воспроизведении навыка после реверсии по сравнению с контролем (табл. 11).

Таблица 11 – Влияние фабомотизола на поведение мышей линии BALB/c в водном лабиринте Морриса, Mean±SEM

Показатели / группа	Контроль, ф.р., n=10		Фабомотизол, 10 мг/кг, n=10	
Обучение после реверсии:	Время поиска, с	Число попыток, ед.	Время поиска, с	Число попыток, ед.
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:	Продолжительность 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.

Полученные в настоящей работе результаты показали, что у мышей линии BALB/c снижена способность к адаптации, как при изменении ранее освоенного шаблона поведения, так и в поддержании нового комплекта реакций. Данное поведение мышей BALB/c обусловлено фенотипом ответа на стресс в новой обстановке, характеризующемся как «freezing» реакция, что нейрохимически сопровождается падением бензодиазепиновой рецепции [46]. Мыши линии BALB/c отличаются исходно низкими уровнями NMDA-рецепторов и связывания бензодиазепинов в гиппокампе и префронтальной коре [23]. В то же время известно, что при тревоге увеличивается ригидность и ритуализация поведения [205]. Сходный с мышами линии BALB/c аутизм-релевантный профиль имеют мыши инбредной линии BTBR [60], для которых показано уменьшение стереотипного поведения при введении R-баклофена – селективного агониста ГАМК_B-рецепторов [293].

Проведенные исследования выявили способность фабомотизола облегчать процесс переобучения у мышей линии BALB/c, что выражалось в увеличении скорости принятия новой обстановки, эффективности решения измененной задачи. Фабомотизол, первично взаимодействуя с сигма-1 рецепторами, вызывает их активацию [1]. Не исключено, что противотревожная активность фабомотизола сопряжена со стимулированием шаперонных

функций сигма-1 рецептора, поскольку препарат нормализует стрессиндуцированное падение рецепции в бензодиазепиновом участке ГАМК_A-рецептора [46].

Большое скопление сигма-1 рецепторов обнаружено в гиппокампе, играющем важную роль в адаптивном поведении, связанном с составлением пространственных когнитивных карт, обучением и памятью. Сигма-1 рецепторы модулируют NMDA-нейротрансмиссию; могут усиливать спонтанный выброс глутамата в гиппокампе, потенцировать индуцированное глутаматом выделение нейротрофического фактора, а также участвовать в процессах синаптической перестройки в гиппокампе [98]. При этом сигма-1 рецепторы регулируют когнитивные процессы только в условиях нарушения нейромедиаторного баланса. Все эти данные согласуются с установленными в настоящей работе результатами и ранее полученными сведениями о механизме действия фабомотизола [1, 34, 35].

Оценка влияния фабомотизола на двигательную активность и габитуацию мышей линии BALB/c проводилась в актометре в двух режимах: при однократной посадке животных на 20 минут и при помещении животных в установку на 5 минут в течение 2 последовательных дней. В качестве показателя угашения двигательной активности при 20-минутной регистрации (при повторных 5-и минутных регистрациях) использовали отношение числа горизонтальных движений за последние 5 мин (2-й день регистрации) к числу горизонтальных движений за первые 5 мин (1-й день регистрации): $K = DA_2 / DA_1$, где K – коэффициент угашения, показывающий степень снижения двигательной активности животных; DA_2 – двигательная активность мышей за последние 5 минут (2-й день регистрации); DA_1 – двигательная активность животных за первые 5 минут (1-й день регистрации). 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).

В первом режиме средняя двигательная активность (горизонтальные перемещения) за всё время наблюдения (20 минут) в группе, получавшей фабомотизол, была достоверно ниже контрольных значений (табл. 12), однако при поминутной оценке зарегистрированных параметров различий в двигательной активности между группами в первые минуты наблюдения не выявлено. Дальнейший анализ поведения животных в актометре показал значимое снижение числа перемещений животных группы «Фабомотизол» на 30,7% по сравнению с группой «Контроль». Коэффициент угашения в группе мышей, получавших фабомотизол, составил 60,4%, что было на 23,3% больше, чем в контрольной группе.

Оценка поведения мышей при повторной посадке в актометр выявила ускорение угашения двигательной активности у животных группы «Фабомотизол», что выразилось в снижении числа перемещений в установке во 2-й день опыта по отношению к показателю 1-го дня. Причем коэффициент угашения двигательной активности у мышей, получавших

фабомотизол, относительно 1-го дня составил 64,4% и был на 19% больше, чем в группе контрольных мышей (табл. 12).

Таблица 12 – Влияние фабомотизола на поведение мышей линии BALB/с в актометре, Mean±SEM

Регистрируемые показатели / группа, число животных	Контроль, n=10	Фабомотизол, 10 мг/кг, n=10
Число перемещений (рассчет на 1 особь) за 20 мин при однократном помещении в актометр, ед.	3162,1±127,8	2618,0±174,8*
Число перемещений на 2-6 мин наблюдения (рассчет на 1 особь) при однократном помещении в актометр, ед.	911,5±35,0	875,5±47,5
Число перемещений на 15-20 мин наблюдения (рассчет на 1 особь) при однократном помещении в актометр, ед.	763,0±32,0^	529,0±50,5*#
Коэффициент угашения двигательной активности: $K = DA_2 / DA_1 * 100, \%$	83,7	60,4
Число перемещений (рассчет на 1 особь) за 5 мин при помещении в актометр в 1-й день опыта, ед.	2397,2±286,9	3480,6±236,0*
Число перемещений (рассчет на 1 особь) за 5 мин при помещении в актометр во 2-й день опыта, ед.	2002,6±79,9	2242,5±177,9#
Коэффициент угашения двигательной активности: $K = DA_2 / DA_1 * 100, \%$	83,5	64,4

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # – $p < 0,05$ по сравнению с предыдущим наблюдением (2-6 vs 15-20 мин или 1-й vs 2-й день) в той же группе; К – коэффициент угашения двигательной активности; DA_2 – двигательная активность за последние 5 минут (2-й день); DA_1 – двигательная активность мышей за первые 5 минут (1-й день).

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии влияния фабомотизола на двигательную активность, или её активацию, что связано с анксиолитической активностью соединения, и о способности ускорять габитуацию у мышей линии BALB/с в процессе привыкания к новой обстановке.

Габитуация (угашение) является одной из форм неассоциативного обучения или негативного обучения, поскольку обучение состоит не в приобретении новых поведенческих реакций, а в их ослаблении вследствие того, что обстановка оценивается как биологически незначимая.

Известно, что процессы угашения отличаются у животных с разным уровнем тревожности [15]. Сравнительное изучение влияния ноопепта (дипептидного ноотропного препарата) на показатели угашения у нелинейных мышей и у мышей линии BALB/с (тимидных, характеризующихся более высоким уровнем тревожности и отвечающими застыванием (freezing), испугом на эмоционально-стрессирующее воздействие) показало, что ноопепт оказывает достоверное облегчающее влияние на показатели габитуации у нелинейных мышей и в меньшей степени – у линейных мышей BALB/с, т.е. выраженность ноотропного действия препаратов у животных с высоким уровнем тревожности невысокая [25]. Полученные данные

свидетельствуют о способности фабомотизола оказывать облегчающее влияние на когнитивные функции в стрессовых условиях или у животных с генетически обусловленным «высокотревожным» фенотипом, и на способность улучшать привыкание к новым условиям, что является важным для лиц, тяжело переносящих какие-либо изменения, характеризующихся стереотипным и ограниченным поведением. В норме реакция на новизну быстро угасает при повторении стимула, аутичные же дети демонстрируют недостаточное привыкание [30].

Фабомотизол повышал эффективность патрулирования в тесте «закрытый крестообразный лабиринт»: большее число животных в группе осуществило второе патрулирование, причем для этого им потребовалось меньшее число заходов в рукава. Также группе, получившей фабомотизол, потребовалось меньше времени на посещение всех 13 рукавов, по сравнению с контрольной группой (табл. 13). Данные показатели свидетельствуют о снижении тревожности у мышей линии BALB/c в условиях новой обстановки и увеличении когнитивных функций на фоне введения фабомотизола.

Таблица 13 – Влияние фабомотизола на поведение мышей линии BALB/c в закрытом крестообразном лабиринте, Mean±SEM

Регистрируемые показатели / группа, число животных	Контроль, n=10	Фабомотизол, n=10
Число посещённых рукавов при 1-м патрулировании, ед	8,1±0,9	7,4±0,8
Время выбора рукавов при 1-м патрулировании, с	4,1±0,5	3,3±0,4
Число посещённых рукавов при 2-м патрулировании, ед	5,3±0,2	4,4±0,3*
Время, затраченное на выполнение 13 заходов в рукава, с	120,8±14,6	87,4±4,4*

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

Полученные в тесте обонятельной габитуации/дисгабитуации результаты выявили способность мышей BALB/c различать запахи, что проявилось в их реакциях на обонятельные стимулы различной природы: нейтральный, несоциальный цитрусовый запах и социальный запах самцов и самок C57Bl/6 при их 1-ом предъявлении. Так, наиболее выраженной реакция животных была на социальный запах и наименее – на запах лимона. При этом при повторных предъявлениях уже знакомого запаха отмечалось снижение интереса к нему, привыкание, что проявлялось в увеличении латентного времени подхода к нему, в снижении числа подходов и в уменьшении длительности взаимодействия с ним (табл. 14).

Реакция животных на обонятельные стимулы различной природы на фоне введения фабомотизола была во многих случаях сходной или более выраженной по сравнению с поведением мышей группы «Контроль». Так, уменьшение реакции на нейтральный запах проходило быстрее, что выразилось в значимом повышении латентного времени подхода к источнику запаха при 2-ом и 3-ем его предъявлениях, и в уменьшении длительности и числа контактов с ним при 3-м предъявлении относительно 1-го. Об улучшении способности

различать запахи на фоне введения фабомозола можно судить по реакции мышей на несоциальный запах – «Лимон», который хотя и был неприятен животным обеих групп, но только в группе «Фабомотизол» отмечалось повышение латентного времени подхода к источнику запаха при 1-ом и 2-ом его предъявлениях относительно соответствующих предъявлений нейтрального запаха «Вода» (табл. 14). Реакция мышей группы «Фабомотизол» на социальный запах была сравнима с поведением контрольных мышей, за исключением снижения длительности контактов с запахом самцов C57Bl/6 при его 2-ом предъявлении.

Таблица 14 – Влияние фабомотизола на реакции мышей BALB/с при предъявлении обонятельных стимулов, Mean±SEM

Обонятельный стимул, № опыта		Контроль, n=10			Фабомотизол, 10 мг/кг, n=10		
		ЛВ, с	Длительность контакта, с	Число контактов, ед.	ЛВ, с	Длительность контакта, с	Число контактов, ед.
Вода	1	18,7±8,1	13,8±4,2	6,0±1,1	12,9±4,5	10,8±4,1	6,1±0,9
	2	38,0±14,2	5,5±2,6	3,2±0,9	47,1±13,7 #	4,8±1,7	3,8±0,7
	3	36,9±12,0	6,4±3,0	3,6±0,8	55,5±14,9 #	3,0±1,6 p<0,1 [#]	2,3±0,8 #
Лимон	1	39,1±13,2	2,2±0,9 &	2,6±0,8 &	58,4±14,2 &	2,0±1,0	2,9±0,8 &
	2	56,4±15,5	0,4±0,2 &	1,6±0,4	88,1±12,6 &	0,6±0,3	1,4±0,5 &
	3	79,4±14,0 &#	0,3±0,1 &#	1,0±0,5	61,7±13,2	1,4±0,7	1,4±0,4
Запах самцов мышей C57Bl/6	1	9,1±2,4	61,7±9,8 &	4,4±0,7	11,0±3,7	60,0±10,1 &	6,3±1,1
	2	17,1±4,9	48,4±9,6 &	3,4±0,5	31,9±13,4	20,3±5,2 *&	3,9±0,9
	3	48,1±10,9 #	14,4±4,1 #	3,6±0,7	61,7±14,8 #	27,1±9,8 #&	2,8±0,8 #
Запах самок мышей C57Bl/6	1	8,3±2,2	62,5±8,1 &	4,1±0,6	6,7±1,4	61,0±8,0 &	5,7±0,7
	2	14,3±3,6	37,5±7,7 &	4,8±0,5	22,9±11,4	28,8±7,2 #&	4,2±0,7
	3	26,8±10,8	14,8±2,5 #&	3,6±0,6	42,1±12,4 #	18,2±3,2 #&	3,7±0,9

Примечание: * – p<0,05 достоверность различий по сравнению с группой «Контроль»; # – p<0,05 достоверность различий по сравнению с пробой 1; & – p<0,05 достоверность различий по сравнению с нейтральным запахом соответствующего предъявления.

Таким образом, на фенотипической (идиопатической) модели расстройств аутистического спектра – мышах линии BALB/с, показано, что фабомотизол 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.

Совокупность полученных результатов позволяет заключить, что фабомотизол может рассматриваться как перспективный препарат для уменьшения нарушений при РАС.

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами:

[16]

3.3. Изучение влияния фабомотизола на поведенческие особенности мышей линии BALB/c с ФВС на раннем этапе постнатального развития (P6-14).

Вальпроевая кислота (ВПК) – противоэпилептическое средство, прием которого при беременности увеличивает риск врожденных пороков развития, задержки когнитивных функций и РАС, объединенных в понятие «фетальный вальпроатный синдром» (ФВС). В настоящее время модель ФВС у грызунов хорошо валидирована и широко используется в патофизиологических и фармакологических исследованиях [86, 253, 305].

Состояние мышат линии BALB/c на раннем этапе развития (гнездовой период) изучали с P6 по P14, оценивая их физическое развитие, скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов, эмоционально-двигательное поведение и точную координацию движений при помощи батареи тестов [143, 187, 286, 320].

Для оценки физического развития мышат начиная с 5 дня постнатального развития ежедневно взвешивали. Показано, что масса тела самцов и самок мышат контрольных групп на P6 и P7 превышала соответствующие показатели групп животных, пренатально получавших ВПК (табл. 15).

Таблица 15 – Влияние фабомотизола на массу тела мышей линии BALB/c с ФВС на 6 и 7 дни их постнатального развития, Mean±SEM

Масса тела самцов, г.	P6	P7	Масса тела самок, г	P6	P7
Контроль, n=12	3,9±0,1	4,5±0,2	Контроль, n=15	4,1±0,2	4,6±0,3
ВПК, n=15	3,5±0,1 *	4,0±0,1 *	ВПК, n=24	3,6±0,1 p<0,09*	4,1±0,1 *
ВПК+Фабомотизол, n=14	3,4±0,1	4,0±0,2	ВПК+Фабомотизол, n=20	3,5±0,2	4,1±0,2
Фабомотизол, n=8	4,1±0,1	4,3±0,1	Фабомотизол, n=9	4,2±0,4	4,8±0,3

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с группой «Контроль».

При оценке прироста массы тела мышей с P7 по P14 относительно P6 (фоновый показатель) как у самцов, так и у самок мышей группы «ВПК» отмечалось увеличение веса в сравнении с показателями контрольной группы. Фабомотизол нормализовал прирост массы тела у мышей с ФВС, что выразилось как в значимом снижении скорости набора веса в сравнении с группой «ВПК», так и в отсутствии различий по данному показателю относительно контрольной группы (рис. 8).

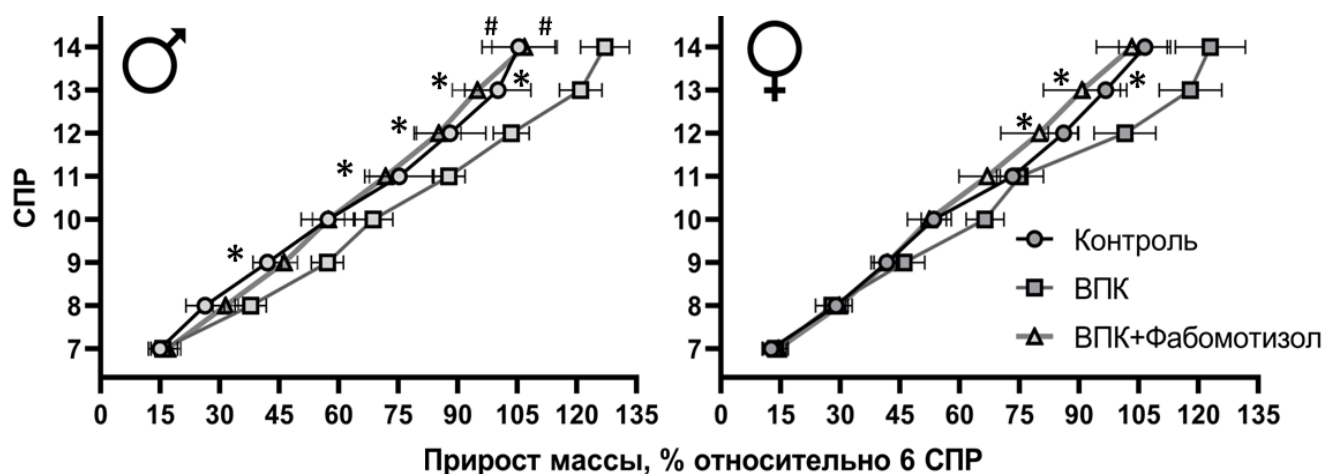


Рисунок 8. Влияние фабототизола на прирост массы тела у мышей BALB/c с ФВС (Mean±SEM). А – самцы, В – самки; *(#) – $p < 0,05$ ($0,09$) по сравнению с группой «ВПК». СПР – сутки постнатального развития.

Анализ сроков прозревания у самцов мышей группы «ВПК» на P13 и P14 выявил их отставание по сравнению с показателями контрольной группы, что выразилось в уменьшении на 23,7% ($p=0,09$) и 13,5% ($p < 0,05$) числа открытых глаз, а также в незначимом снижении на 30,0% и 26,7% числа животных, открывших оба глаза, соответственно (табл. 16). Фабототизол не предотвратил задержку прозревания у самцов с ФВС.

ВПК, введенный пренатально, не влиял на сроки прозревания у самок мышей BALB/c: отмечалось лишь незначимое снижение на 24,7 и 21,7% числа мышей с полностью открытыми глазами на P13 в группах «ВПК» и «ВПК+Фабототизол», соответственно, по сравнению с контрольной группой (табл. 16). Сроки прозревания и число животных с 2-мя открытыми глазами на P14 у самок BALB/c всех групп были равны.

Таким образом, пренатальное введение ВПК оказывало негативное влияние на физическое развитие мышей линии BALB/c, что согласуется с данными литературы [143, 242].

Таблица 16 – Влияние фабототизола на скорость прозревания у мышей BALB/c с ФВС, Mean±SEM

Группы, число мышей	Число открытых глаз, ед.		Число мышей с 2 открытыми глазами, %	
	P13	P14	P13	P14
Самцы				
Контроль, n=12	1,7±0,2	2,0±0,0	83,3	100,0
ВПК, n=15	1,3±0,2	1,7±0,1*	53,3	73,3
ВПК+Фабототизол, n=12	0,8±0,3*	1,7±0,2	25,0#	75,0
Фабототизол, n=8	1,5±0,3	2,0±0,0	75,0	100,0
Самки				
Контроль, n=15	1,5±0,2	1,8±0,1	66,7	86,7
ВПК, n=24	1,0±0,2	1,8±0,1	42,0	88,0
ВПК+Фабототизол, n=20	1,2±0,2	2,0±0,1	45,0	95,0
Фабототизол, n=9	1,3±0,4	1,8±0,2	66,7	88,9

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», # – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль» по критерию Фишера.

В тесте «переворот на поверхности» самцы мышей, получавшие ВПК, на P6 статистически значимо дольше выполняли переворот со спины с упором на все четыре конечности по сравнению с контрольными мышами ($9,64 \pm 2,55$ или $10,79 \pm 2,61$ vs $6,58 \pm 0,67$ в контроле); однако в последующие дни отличий по данному параметру не наблюдалось (данные не представлены). У самок мышей с ФВС отличий относительно соответствующей группы «Контроль» в данном тесте не зарегистрировано (данные не представлены).

В тесте «избегание обрыва» поведение мышей BALB/c контрольной и опытной групп, как самцов, так и самок, оказалось схожим (данные не представлены).

В тесте «отрицательный геотаксис» статистически значимые различия у самцов группы «ВПК» по сравнению с контрольной группой по времени поворота тела на наклонной плоскости головой в направлении подъема наблюдались только на P12 (табл. 17). Фабомотизол, в эти же сроки, увеличил в 1,9 раза ($p < 0,05$) скорость выполнения рефлекса у самцов с ФВС относительно самцов группы «ВПК» (табл. 17).

Таблица 17 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «отрицательный геотаксис», Mean $\pm$ SEM

Группы, число мышей	Скорость поворота тела на наклонной плоскости, с					
Самцы	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Контроль, n=12	17,1 $\pm$ 2,4	16,3 $\pm$ 2,1	13,9 $\pm$ 2,1	12,0 $\pm$ 1,7	10,3 $\pm$ 1,5	6,5 $\pm$ 0,9
ВПК, n=12	21,9 $\pm$ 1,8	20,8 $\pm$ 2,3	16,5 $\pm$ 2,4	13,0 $\pm$ 1,7	9,3 $\pm$ 1,1	10,3 $\pm$ 1,5*
ВПК+Фабомотизол, n=14	20,3 $\pm$ 2,9	19,0 $\pm$ 2,6	13,1 $\pm$ 2,5	11,7 $\pm$ 2,8	8,9 $\pm$ 1,6	5,3 $\pm$ 1,0#
Фабомотизол, n=8	20,7 $\pm$ 3,2	15,6 $\pm$ 2,9	15,8 $\pm$ 1,6	12,5 $\pm$ 1,9	11,6 $\pm$ 1,1	8,1 $\pm$ 1,0
Самки	P7	P8	P9	P10	P11	P12
Контроль, n=12	17,4 $\pm$ 2,3	16,8 $\pm$ 2,8	14,0 $\pm$ 2,2	12,6 $\pm$ 1,6	8,7 $\pm$ 0,9	8,0 $\pm$ 1,1
ВПК, n=24	21,5 $\pm$ 1,8	17,7 $\pm$ 1,7	16,6 $\pm$ 1,9	12,2 $\pm$ 1,4	12,2 $\pm$ 1,5	11,3 $\pm$ 1,6
ВПК+Фабомотизол, n=20	16,9 $\pm$ 1,9 p < 0,09#	14,7 $\pm$ 2,0	14,5 $\pm$ 1,4	10,8 $\pm$ 1,5	10,6 $\pm$ 1,1	8,1 $\pm$ 0,8^ p < 0,09#
Фабомотизол, n=9	21,7 $\pm$ 3,7	17,5 $\pm$ 3,4	13,5 $\pm$ 3,4	11,7 $\pm$ 2,5	9,7 $\pm$ 1,8	9,3 $\pm$ 1,1

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

У самок мышей с ФВС значимых различий во времени, необходимом для принятия правильного положения тела в тесте «отрицательный геотаксис», относительно контрольной группы не обнаружено. При этом на фоне введения фабомотизола самкам мышей с ФВС, отмечалась тенденция к превышению скорости поворота тела на P7 и P12 в 1,3 и 1,4 раз, соответственно, относительно группы «ВПК» (табл. 17). Межполовые различия в данном тесте наблюдались только на P12 в группах «ВПК+Фабомотизол», где самцы в 1,5 раза быстрее, чем самки, справлялись с задачей теста (табл. 17).

В тесте «переворот в воздухе» у самцов мышей группы «ВПК» значимое ухудшение координации движений по сравнению с контрольной группой отмечалось на P14, что

выразилось в уменьшении на 27,0% ($p < 0,05$) числа животных в группе, успешно выполнивших все 3 попытки (табл. 17). Показатели самцов мышей с ФВС, получавших фабомотизол, в тесте «переворот в воздухе» во все дни тестирования не отличались от контрольных значений (табл. 18).

Таблица 18 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тестах «переворот в воздухе» и «веревочка», $\text{Mean} \pm \text{SEM}$

Группы, число мышей	Число мышей, успешно выполнивших 3 попытки в тесте «переворот в воздухе», %					Продолжительность удержания на веревочке, с
	P10	P11	P12	P13	P14	
Самцы						P14
Контроль, n=12	0	0	45	73	91	20,8 $\pm$ 3,1
ВПК, n=15	0	20	36	60	64#	12,9 $\pm$ 1,5*
ВПК+Фабомотизол, n=14	0	33	40	67	83	12,8 $\pm$ 2,3*
Фабомотизол, n=8	0	25	63	100	100	19,0 $\pm$ 3,5
Самки						P14
Контроль, n=15	7	14	29	71	86	18,3 $\pm$ 2,6
ВПК, n=24	0	13	21	33*	54*	12,5 $\pm$ 1,3*
ВПК+Фабомотизол, n=20	20	30	67*	70#	85#	12,7 $\pm$ 2,1
Фабомотизол, n=9	0	11	67	88	100	19,7 $\pm$ 3,0

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», # – $p < 0,05$ по сравнению с группой «ВПК». Для статистической оценки данных теста «переворот в воздухе» применялся критерий Фишера.

У самок мышей с ФВС в тесте «переворот в воздухе» отмечалось замедление формирования рефлекса, что выразилось в значимом снижении на 38,0 и 32,0% на P13-P14, соответственно, числа животных, успешно выполнивших все 3 попытки. При этом самки мышей группы «ВПК+Фабомотизол», справлялись с задачей теста значительно лучше во все дни опыта, что выразилось в увеличении на 46,0, 37,0 и 31,0% числа мышей, успешно выполнивших перевороты в воздухе, на P12-P14, соответственно, по сравнению с группой «ВПК» (табл. 18).

Анализ числа животных, успешно выполнивших все 3 попытки в тесте «переворот в воздухе», выявил позитивный эффект фабомотизола, в большей степени проявляющийся у самок мышей с ФВС, что может свидетельствовать о протективном действии препарата на процессы развития нервной системы.

Оценка мышечной силы в тесте «веревочка» у самцов и самок мышей BALB/c, пренатально получавших ВПК, выявило ее уменьшение, что выразилось в значимом снижении в 1,6 раза времени удержания на веревочке на P14 по сравнению группой «Контроль» (табл. 18). Фабомотизол не оказал влияния на отмеченные нарушения у мышей с ФВС.

Анализ результатов теста «вздрагивание на хлопок» у самцов мышей группы «ВПК» выявил отсутствие ответной реакции на внезапный раздражитель у всех животных на P11 ($p < 0,05$) и в ее значимом снижении на P12, относительно значений контрольной группы, что свидетельствует о наличии задержки в развитии нервной системы (табл. 19). У самок мышей с ФВС также, как и у самцов, реакции на хлопок на P11 не отмечали ($p < 0,05$). Фабомотизол предотвращал снижение скорости формирования рефлекса, как у самцов, так и у самок мышей с ФВС, что выразилось в отсутствии различий с соответствующими показателями контрольной группы (табл. 19).

Таблица 19 – Влияние фабомотизола на скорость формирования рефлексов у мышей BALB/c с ФВС, Mean $\pm$ SEM

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

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

Подобное изменение процессов развития нервной системы наблюдалось и при оценке формирования ушного рефлекса на фоне пренатального введения ВПК самцам и самкам мышей линии BALB/c, что выразилось в значимом снижении числа ответных реакций животных на раздражитель в сравнении с показателями контрольных групп (табл. 19). Фабомотизол облегчал формирование рефлекса, как у самцов, так и у самок мышей с ФВС. Число реакций на стимул у самцов с ФВС, получавших фабомотизол, было значимо больше на P10-P12, а у самок – на P10, в сравнении с показателем соответствующей группы «ВПК» (табл. 19).

Дефицит социального взаимодействия является одним из основных симптомов РАС, а наиболее распространенным тестом для его изучения в эксперименте является поведение в трех-камерной установке с предъявлением разных по социальной значимости объектов [242]. Поскольку данный тест применим для более взрослых животных, для определения ранних поведенческих нарушений при социальном распознавании была использована его модифицированная версия – тест «Предпочтение материнского запаха». Установкой для теста служила стандартная клетка, аналогичная «домашней», которая была поделена на равные зоны, содержащие опилки из «родной» и «чужой» клетки, между которыми располагались чистые

опилки (нейтральный запах). Для каждой мыши осуществляли 3 посадки в «нейтральную» зону опытной клетки, меняя направление ее тела.

Как следует из полученных результатов, самцы мышей контрольной группы при первой посадке в опытную клетку (без ориентации к значимым зонам) пребывали примерно равное время в каждой из зон («домашней», «нейтральной» и «чужой»), тогда как мыши с ФВС больше времени проводили в зоне с опилками из домашней клетки ($p<0,05$). При посадке мышей головой в направлении зоны с «домашним» запахом животные всех групп демонстрировали предпочтение этой части клетки. Однако, при помещении мышей головой в направлении зоны с запахом «чужой» клетки, отмечалось отсутствие предпочтения определенного запаха у животных групп «Контроль» и «ВПК», в то время как под действием фабомотизола, самцы мышей с ФВС значимо больше времени проводили в зоне с опилками из домашней клетки (табл. 20).

Таблица 20 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «предпочтение материнского запаха», Mean $\pm$ SEM

Группы, число мышей	Длительность нахождения в зоне клетки								
	Посадка в экспериментальную клетку при ориентации мыши								
	головой к боковой стене			головой к «домашним» опилкам			головой к «чужим» опилкам		
Самцы	Д	Н	Ч	Д	Н	Ч	Д	Н	Ч
Контроль, n=11	16,0 $\pm$ 6,9 p<0,09*	20,2 $\pm$ 6,1	23,8 $\pm$ 7,6	33,4 $\pm$ 8,1	20,1 $\pm$ 6,5	6,6 $\pm$ 4,5#	17,2 $\pm$ 7,0	22,5 $\pm$ 6,3	20,4 $\pm$ 7,5
ВПК, n=12	32,8 $\pm$ 6,0	11,3 $\pm$ 1,3	14,7 $\pm$ 6,3#	46,5 $\pm$ 4,1	9,1 $\pm$ 1,9#	3,3 $\pm$ 2,6#	24,9 $\pm$ 6,9	10,3 $\pm$ 1,3	23,6 $\pm$ 6,6
ВПК+ Фабомотизол, n=14	36,2 $\pm$ 5,3	22,4 $\pm$ 4,9	1,8 $\pm$ 1,5# p<0,09*	49,2 $\pm$ 2,2	10,8 $\pm$ 2,2#	0,0 $\pm$ 0,0#	39,2 $\pm$ 4,9	16,8 $\pm$ 4,3#	4,1 $\pm$ 2,4*#
Самки	Д	Н	Ч	Д	Н	Ч	Д	Н	Ч
Контроль, n=12	24,0 $\pm$ 6,3	16,4 $\pm$ 2,7	19,5 $\pm$ 6,3	41,6 $\pm$ 3,4	10,2 $\pm$ 1,2#	8,2 $\pm$ 3,3#	31,9 $\pm$ 6,0*	12,3 $\pm$ 1,6*#	15,9 $\pm$ 5,6#
ВПК, n=24	17,3 $\pm$ 5,0	19,5 $\pm$ 3,6	23,2 $\pm$ 5,0	35,8 $\pm$ 4,9	17,9 $\pm$ 3,5#	6,2 $\pm$ 2,6#	13,1 $\pm$ 3,8	31,0 $\pm$ 4,4#	15,9 $\pm$ 4,6
ВПК+ Фабомотизол, n=20	32,4 $\pm$ 4,3*	26,4 $\pm$ 4,2	1,3 $\pm$ 1,3*#	44,0 $\pm$ 3,9	12,7 $\pm$ 2,9#	3,4 $\pm$ 2,4#	31,7 $\pm$ 4,7*	18,1 $\pm$ 3,4*#	10,3 $\pm$ 3,9#

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с группой «ВПК»; # – $p<0,05$ по сравнению с отсеком, содержащим опилки из «домашней» клетки (внутригрупповое сравнение); Д – опилки из «домашней» клетки, Н – «нейтральные» (чистые опилки), Ч – опилки из «чужой» клетки.

Самки мышей контрольной группы, также как самки группы «ВПК» при первом помещении в опытную клетку вдоль зоны с нейтральными опилками вели себя аналогично самцам, не отдавая предпочтения какой-либо из них. Тогда как самки мышей с ФВС, получавшие фабомотизол, предпочитали зону с «домашним» запахом (табл. 20). При втором помещении самок мышей всех групп в опытную клетку головой в направлении зоны с

«домашним» запахом отмечался преимущественный выбор именно этой зоны. Наиболее интересным является анализ третьего размещения животных в клетке с разными по социальной значимости зонами головой к «чужим» опилкам, когда самки групп «Контроль» и «ВПК + Фабомотизол», проводили в зоне с опилками из «домашней» клетки в 2,0 ($p < 0,05$) и 3,0 раз ($p < 0,05$) больше времени, соответственно, по сравнению с группой «ВПК» (табл. 20).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии у мышей с ФВС, вызванным пренатальным введением ВПК в дозе 400 мг/кг, задержки физического и неврологического развития, а также об уменьшении способности к социальному распознаванию в гнездовом периоде с P6 по P14, проявляющейся в снижении массы тела на начальных этапах, а затем ее быстром избыточном наборе, в более позднем открывании глаз, замедлении развития ответных реакций на сенсорные стимулы, увеличении времени переворота на поверхности и ухудшение моторики и координации движений в тестах «отрицательный геотаксис» и «переворот в воздухе», и отсутствии предпочтения материнского запаха.

Недавние исследования предполагают, что сниженный при рождении вес может быть фактором риска РАС [329]. В наших опытах мыши с ФВС значимо отставали по массе тела на P6-P7 в сравнении с контрольными животными. Однако, в дальнейшем, прирост веса у получивших ВПК мышей превышал показатели контрольных групп, чего не наблюдалось на фоне введения фабомотизола. Можно отметить, что дети с РАС и деструктивным поведением подвержены повышенному риску ожирения [161].

Мышата групп, пренатально получавших ВПК, а затем с P7 по P14 – фабомотизол, проводили больше времени в зоне с опилками, взятыми из домашней клетки, в то время как у мышей групп «ВПК», отличий во времени, проведенном в разных по социальной значимости зонах (с чистыми опилками, опилками из домашней или чужой клетки), не было. Эти данные свидетельствуют о том, что у мышей линии BALB/c с ФВС нарушается способность различать социальные и несоциальные, а также знакомые и чужие запахи, что воспроизводит характерную для РАС дисфункцию социального взаимодействия и распознавания [329]. Полученные результаты указывают на способность фабомотизола ослаблять повреждающее воздействие и даже нормализовать данную функцию. Следует отметить, что гломерулы в обонятельных луковицах мышей развиваются от E13 до E16 [72], т.е. в период введения токсической дозы ВПК при моделировании ФВС.

Поведение самцов мышей BALB/c в тесте «предпочтение материнского запаха» возможно связано со специфичным для линии аутизм-релевантным фенотипом с нарушениями в обонятельной сфере, особенно проявляющимися при предъявлении социальных запахов [82]. Известно, что обонятельная функция у грызунов обеспечивается основной обонятельной системой и вспомогательной, специализированной для внутривидовой связи. Показано что

типичные гломерулы линий мышей BALB/c и CD-1 отличаются по своей внутригломерулярной связности и морфометрии [324], чем можно объяснить различное поведение мышей в ответ на запахи. Половой диморфизм в обонятельной функции был обнаружен в добавочной обонятельной системе, которая в основном связана с информацией о феромонах и репродуктивным поведением [288]. Согласно полученным результатам самки мышей линии BALB/c обладают лучшими обонятельными способностями, связанными с осуществлением видовых коммуникаций, что косвенно подтверждается большим числом нетипичных гломерул у самок [288], и позволяет предполагать половой диморфизм по данному признаку.

Выявленные в нашем исследовании позитивные эффекты фабомотизола не противоречат представлениям о стимуляции препаратом шаперонной функции сигма-1 рецепторов [160], что вероятно обеспечивает влияние на моноаминергические и глутаматергические системы мозга, на пластические и трофические процессы в ЦНС, изменения которых характерны для PAC [313].

Таким образом, в результате проведенных экспериментов по изучению влияния фабомотизола на показатели развития нервной системы в периоде раннего постнатального развития мышей линии BALB/c на модели ФВС установлены корректирующие свойства препарата в отношении нарушений, вызванных пренатальным введением ВПК, что определяет целесообразность дальнейшего изучения фабомотизола на моделях PAC.

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами:

[17]

3.4. Изучение влияния фабомотизола на поведенческие особенности мышей линии BALB/с с ФВС в раннем пубертатном периоде (Р31-41).

Тест «закрытый крестообразный лабиринт» (ЗКЛ) позволяет оценить эффективность ориентации в пространстве в процессе исследовательского поведения животного, которая рассматривается как один из видов когнитивной деятельности, не связанной с собственно двигательной активностью и не требующей предварительного обучения (это, например, такие параметры как число патрулирований, эффективность патрулирования и др.), а также тревожность животных (оцениваемые параметры: латентный период первого захода в один из рукавов, длительность пребывания в первом посещенном рукаве, двигательная активность и др.) [22].

Оценка поведения самцов мышей BALB/с с ФВС в тесте ЗКЛ выявило отсутствие различий по длине первого цикла патрулирования (т.е. посещения всех его четырех отсеков хотя бы один раз), исчисляемую числом заходов в тупики; чем меньше данный показатель, тем больше эффективность обхода тупиков лабиринта; числу посещенных рукавов в ходе выполнения 1-го цикла патрулирования и общему числу патрулирований за время наблюдения, а также эффективности патрулирования относительно значений контрольной группы (табл. 21). При этом мыши группы «ВПК» отличались повышенной тревожностью, что выразилось в увеличении в 2,7 раза ($p < 0,09$) времени первого захода в один из рукавов ЗКЛ из стартовой центральной площадки по сравнению с группой «Контроль». По другим показателям, отражающим тревожность мышей, различий между группами «ВПК» и «Контроль» не наблюдалось, что объясняется изначально повышенным уровнем тревожности у мышей линии BALB/с. Кроме того у самцов мышей с ФВС в тесте ЗКЛ наблюдалось наибольшее число возвращений в только что посещенный рукав, а также в рукав, посещенный перед ним, что также может свидетельствовать о повышении тревожности и о росте стереотипии.

Фабомотизол не оказал значимого влияния на когнитивные функции самцов мышей BALB/с в тесте ЗКЛ, однако снизил тревожность, что выразилось в уменьшении латентного периода первого выбора, длительности пребывания в первом посещенном рукаве и увеличении двигательной активности, оцениваемой по продолжительности выполнения 13 заходов в рукава лабиринта, по сравнению с группой «ВПК» (табл. 21). У самцов группы «ВПК+Фабомотизол» число возвращений в только что посещенный рукав было в 1,7 раза незначимо меньше, чем в группе «ВПК».

У самцов мышей BALB/с группы «Фабомотизол» отмечалось улучшение поведения патрулирования в тесте ЗКЛ, выразившееся в значимом повышении эффективности патрулирования, уменьшении в 7,5 раза времени нахождения в первом посещенном рукаве, снижение в 2,7 или в 2,1 раз числа возвращений в только что посещенный рукав или в рукав,

исследованный перед ним, а также уменьшение, хотя и не достигавшее уровня значимости, на 26,2% продолжительности выполнения теста по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы (табл. 21).

Таблица 21 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «закрытый крестообразный лабиринт», Mean±SEM

Показатель / группа	Контроль	ВПК	ВПК + Фабомотизол	Фабомотизол
Самцы (по n=10-15 в группе)				
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±0,0	0,41±0,0	0,46±0,1	0,51±0,1*
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*
Продолжительность выполнения теста, с	372,2±24,3	424,7±60,7	283,5±47,3 p<0,08#	274,6±62,0
Самки (по n=10-15 в группе)				
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
Продолжительность 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.

Самки мышей BALB/c групп «Контроль», «ВПК» и «ВПК+Фабомотизол» не имели различий по показателям патрулирования, используемым для оценки когнитивных изменений, а также тревожности в условиях теста ЗКЛ. Повышенная тревожность у самок группы «ВПК+Фабомотизол» по сравнению с контрольными животными проявилась в увеличении времени первого захода в один из рукавов лабиринта (табл. 21).

Фабомотизол, аналогично с описанным ранее влиянием на поведение самцов мышей BALB/c в тесте ЗКЛ, улучшил показатели патрулирования, регистрируемые у самок без патологии, что выразилось в значимом уменьшении в 1,6 раза длины первого цикла патрулирования, увеличении в 2,7 раза циклов патрулирования, снижении в 4,1 раза числа возвращений в только что посещенный рукав и в увеличении на 23,2% двигательной активности по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы (табл. 21).

Таким образом, фабомотизол не влиял на когнитивные функции у самцов мышей линии BALB/c с ФВС в тесте ЗКЛ, но уменьшал тревожность, тогда как у самок был не эффективен. При этом у мышей BALB/c, без пренатальной патологии, фабомотизол уменьшал тревожность в условиях новой обстановки и увеличивал когнитивные функции, что было более выражено для самок.

Анализ поведения самцов мышей линии BALB/c с ФВС в тесте «квадратное открытое поле» не выявил отличий по числу горизонтальных перемещений, посещённых углов, стоек и эпизодов груминга. Однако продолжительность груминга у самцов с ФВС была в 1,8 раза больше ($p<0,05$), чем в контрольной группе, что свидетельствует о повышении стереотипии на фоне введения ВПК (табл. 22). Фабомотизол снижал проявления стереотипии у самцов с ФВС, что выразилось в уменьшении продолжительности груминга по сравнению с группой «ВПК» и в отсутствии различий с показателями контрольной группы (табл. 22).

Таблица 22 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «квадратное открытое поле», Mean $\pm$ SEM

Группа, число мышей	Число перемещений, ед.	Посещено углов: % числа перемещений	Стойки, ед.	Груминг (число / длительность)	
				ед.	с
Самцы					
Контроль, n=14	123,0±21,4	39,3±2,1	19,0±5,6	5,3±1,0	19,3±3,9
ВПК, n=15	120,8±13,8	42,3±2,5	26,2±5,2	6,2±0,6	35,3±5,4*
ВПК+Фабомотизол, n=15	106,8±17,1	39,7±2,1	18,7±7,3	5,8±0,8	22,5±3,0 #
Фабомотизол, n=10	114,4±13,6	49,4±5,2	23,6±6,8	4,1±0,9	21,2±6,4
Самки					
Контроль, n=16	118,7±20,1	40,4±0,8	21,4±6,6	6,9±1,2	17,2±3,8
ВПК, n=22	144,2±13,0	39,0±1,1	40,4±8,0 p<0,09*	7,2±0,9	25,7±3,1 p<0,09*
ВПК+Фабомотизол, n=16	93,3±22,3 #	37,6±1,9	24,2±9,8	3,5±0,9 #	17,3±3,5 p<0,09#
Фабомотизол, n=10	105,8±15,1	43,6±8,0	19,4±8,4	3,6±0,9	14,3±4,3

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

Поведение самок мышей BALB/c с ФВС в тесте «квадратное открытое поле» статистически значимо не отличалось от поведения самок группы «Контроль» по всем регистрируемым показателям, за исключением продолжительности груминга, которая, как и у самцов с ФВС, была значительно больше. При этом у самок мышей с ФВС отмечалась гиперактивность, выразившаяся в росте на 21,5% числа горизонтальных перемещений и на 88,8% числа вертикальных стоек по сравнению с показателями самок контрольной группы, однако не достигавшая критерия значимости (табл. 22).

Хроническое введение фабомотизола самкам с ФВС приводило к уменьшению в 2,1 и 1,5 раз, соответственно, числа эпизодов и продолжительности груминга, что свидетельствует об уменьшении выраженности стереотипного поведения. Для самок мышей с ФВС, получавших фабомотизол, также было характерно снижение двигательной активности, проявившееся в тенденции к уменьшению на 35,3% числа посещенных квадратов и числа стоек по сравнению с группой «ВПК», что возможно, с учетом уменьшения показателей груминга, связано с анксиолитическим действием препарата (табл. 22).

Оценку влияния фабомотизола на социальное взаимодействие мышей BALB/c проводили в тесте «перегородка», в котором тестируемое животное помещалось в установку, разделенную на большой и малый отсеки прозрачной перегородкой с отверстиями, допускающей визуальный и обонятельный контакты, но не тактильный, за которую помещали социальные стимулы: знакомую (животное из той же «домашней» клетки) и незнакомую мышь.

При оценке реакции самцов мышей BALB/c в тесте «перегородка» на знакомую мышь отличий между тестируемыми группами не наблюдалось, за исключением увеличения числа близких подходов к перегородке у животных группы «ВПК+Фабомотизол» по сравнению с группой «ВПК» (табл. 23).

При замене знакомой стимульной мыши на незнакомую у самцов мышей групп «Контроль», «ВПК», «ВПК+Фабомотизол», «Фабомотизол» продолжительность нахождения у перегородки увеличилась соответственно, на 41%, 26,4%, 68% и 63,4%, по сравнению с показателями, зарегистрированными ранее относительно знакомой мыши (внутригрупповое сравнение). При этом коэффициент предпочтения незнакомой мыши в группе «ВПК» был самый низкий (55,8%), а самый высокий – 62,7%, отмечался в группе «ВПК+Фабомотизол» (табл. 23).

У самок мышей BALB/c групп «Контроль» и «ВПК» различий по числу подходов к перегородке при посадке за нее как знакомой, так и незнакомой мыши, не обнаружено. Самки группы «ВПК+Фабомотизол» демонстрировали увеличение предпочтения мышей с ФВС к незнакомому социальному объекту, что выразилось в значимом росте числа подходов к перегородке на 20% по сравнению с контрольными значениями и на 39% по сравнению с числом контактов со знакомой мышью (табл. 23).

Длительность контакта, как со знакомой, так и с незнакомой стимульной мышью, у самок мышей BALB/c с ФВС была статистически значимо ниже соответствующих показателей контрольной группы. При этом у самок мышей всех групп при внутригрупповом сравнении отмечалось увеличение длительности контактов с перегородкой, отделяющей от незнакомой мыши, по сравнению с показателями для знакомой мыши, что выразилось в равных коэффициентах предпочтения незнакомое социального объекта (табл. 23).

Таблица 23 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «перегородка», Mean±SEM

Группа, число мышей / показатель	Число контактов, ед		Длительность контакта, с		Коэф. (К) предпочтения незнакомой мыши по длительности контакта, %
	Знакомая мышь	Незнакомая мышь	Знакомая мышь	Незнакомая мышь	
Самцы					
Контроль, n=10	14,5±0,9	13,8±1,0	99,1±10,5	139,8±11,6&	58,5
ВПК, n=10	13,7±1,1	16,2±1,3	102,9±7,1	130,1±12,9 p<0,09&	55,8
ВПК + Фабомотизол, n=8	16,9±1,0 #	15,4±0,6	91,5±13,2	153,7±14,9 &	62,7
Фабомотизол, n=8	14,4±1,3	15,3±0,9	92,1±10,0	150,5±16,3&	62,0
Самки					
Контроль, n=12	13,4±0,9	13,3±0,8	101,6±9,9	159,1±9,9&	61,0
ВПК, n=12	13,9±0,6	14,1±1,0	79,0±4,4 p<0,07*	127,4±8,3 *&	61,7
ВПК+Фабомотизол, n=12	11,5±1,2	16,0±0,9 *&	66,6±8,2 *	120,3±10,8 *&	64,4
Фабомотизол, n=8	16,8±0,8*	16,4±0,9*	98,4±9,5	152,4±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 показателями, полученными при контакте со знакомой мышью; К = длительность контакта с незнакомой мышью / сумма длительностей контактов с незнакомой и знакомой мышью × 100.

Таким образом, при оценке социального взаимодействия в тесте «перегородка» у самцов мышей BALB/c с ФВС, получавших фабомотизол, отмечались выраженный интерес к социальному (знакомому) объекту, в отличие от группы «ВПК», а также предпочтение незнакомого социального объекта знакомому, что выразилось как в увеличении длительности контакта с перегородкой, за которой располагали незнакомую мышь, так и в наличии самого высокого коэффициента предпочтения незнакомой мыши по сравнению с другими тестируемыми группами.

В тесте «автогруминг», позволяющим оценить стереотипное поведение животных в привычной нестрессорной обстановке, у самцов мышей BALB/c, пренатально получавших ВПК, регистрировалось значимое увеличение в 1,7 раза продолжительности груминга по сравнению с данными контрольной группы. Фабомотизол предотвращал повышение продолжительности и числа эпизодов груминга у самцов мышей с ФВС по сравнению с группой «ВПК» (табл. 24). У самок мышей BALB/c с ФВС – длительность груминга была в 1,6 раз достоверно выше, чем в контрольной группе, при этом введение фабомотизола не уменьшало данное проявление (табл. 24).

Таблица 24 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «автогруминг», Mean±SEM

Группа, число / показатель	Груминг		Двигательная активность	
	продолжительность, с	число эпизодов, ед.	вертикальная, ед	горизонтальная, ед
Самцы				
Контроль, n= 14	20,9±3,2	8,1±1,5	60,0±11,3	143,2±6,2
ВПК, n= 15	36,4±5,7*	8,8±1,4	64,6±9,4	154,0±16,3
ВПК+ Фабомотизол, n= 15	20,3±2,9#	5,7±1,0#	43,6±13,1	111,1±14,7#
Фабомотизол n= 10	17,8±2,1	7,0±1,1	52,0±10,1	113,9±13,9*
Самки				
Контроль, n=16	17,6±2,5	6,1±1,0	43,8±9,3	131,7±12,1
ВПК, n= 12	28,7±4,0*	7,1±0,8	56,9±5,4	139,9±6,8
ВПК+ Фабомотизол, n=16	28,7±5,1 p<0,06*	6,1±0,7	38,1±7,4#	110,9±18,0#
Фабомотизол, n= 10	15,8±2,1	5,8±1,2	57,2±8,8	138,2±6,6

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

При этом в группах как самцов, так и самок мышей BALB/c с ФВС, получавших фабомотизол, отмечалось снижение двигательной активности, как вертикальной, так и горизонтальной (табл. 24), что с учетом нахождения животных в знакомой обстановке (домашняя клетка), и, исходя из известных данных о повышении двигательной и ориентировочно-исследовательской активности животных с РАС в знакомой обстановке, может свидетельствовать в пользу позитивного действия препарата в условиях данной модели.

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

3.5. Изучение влияния фабомотизола на поведенческие особенности мышей линии BALB/c с ФВС в пубертатном и взрослом молодом периоде (P47-62)

В оцениваемый период онтогенеза мышей BALB/c, характеризующийся наступлением половой зрелости, сопровождающийся ростом роли социальных взаимоотношений, а также полового и оборонительного поведения, в работе использовали тесты позволяющие оценить социальные аспекты, стереотипию, поведение, направленное на обеспечение терморегуляции и процессов размножения, а также оборонительное поведение в ответ на запах хищника.

В тесте «водный лабиринт Морриса» у самцов мышей линии BALB/c с ФВС в течение 3 дней обучения положительной динамики в освоении пространственного навыка не выявлено: длительность и число успешных попыток поиска скрытой под водой платформы от дня ко дню не изменялись и были значимо хуже показателей контрольной группы. На 3-й день обучения длительность поиска платформы у животных группы «ВПК» была в 5,4 раза больше, а число успешных попыток в 2,4 раза меньше, чем в группе «Контроль» (табл. 25).

Таблица 25 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «водный лабиринт Морриса», Mean±SEM

Группа, число мышей / параметр	Время поиска платформы, с			Число успешных попыток, ед.		
	День 1	День 2	День 3	День 1	День 2	День 3
Самцы						
Контроль, n=10	29,1±5,1	19,8±7,3	8,8±1,6	3,5±0,3	3,8±0,3	4,0±0,0
ВПК, n=9	51,7±4,0*	49,1±3,0*	47,2±3,8*	1,0±0,4*	2,0±0,7*	1,7±0,8*
ВПК+	54,1±2,7*	51,8±3,0*	45,3±3,5*	0,9±0,4*	1,6±0,6*	2,0±0,8*
Фабомотизол, n=9						
Фабомотизол, n=8	40,5±4,1	36,6±7,3	26,9±4,3*	2,4±0,5	2,8±0,6	3,8±0,2
Самки						
Контроль, n=10	40,3±4,0	42,1±3,4	31,3±3,8	2,1±0,6	2,6±0,4	3,3±0,3
ВПК, n=10	59,1±0,7*	56,5±1,5*	49,2±3,1*	0,2±0,1*	0,8±0,4*	1,1±0,5*
ВПК+	58,2±0,8*	49,6±3,1	42,0±3,6	0,9±0,3#	1,5±0,5	2,4±0,6
Фабомотизол, n=10						
Фабомотизол n=8	37,3±5,1	41,4±4,3	35,4±4,4	2,2±0,7	2,6±0,4	3,2±0,5

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

Фабомотизол не улучшал показатели пространственного обучения в водном лабиринте у самцов мышей BALB/c с ФВС (табл. 25).

Обучение пространственному навыку у самцов линии BALB/c без патологии на фоне фабомотизола было сравнимым с показателями контрольной группы, за исключением 3 дня обучения, когда длительность поиска скрытой под водой платформы была в 3,1 раза больше, что, однако, не ухудшало другой показатель – число успешных попыток (табл. 25).

Самки мышей BALB/c с ФВС, вели себя аналогично самцам: во все дни обучения длительность поиска платформы была значимо больше, а число успешных попыток – меньше,

чем в группе «Контроль». На 3-й день обучения число успешных попыток поиска скрытой под водой платформы у самок мышей группы «ВПК» была в 3 раза меньше, чем в группе «Контроль» (табл. 25).

Фабомотизол уменьшал негативные последствия пренатального введения ВПК у самок мышей BALB/c с ФВС на обучение пространственному навыку, что выразилось в росте числа успешных попыток в 4,5 ($p < 0,05$) 1,9 и 2,2 раз, в 1-й, 2-й и 3-й дни обучения, соответственно, по сравнению с группой «ВПК» и в отсутствии различий по регистрируемым показателям с группой «Контроль», за исключением длительности поиска платформы в 1-й день обучения (табл. 25).

Обучение пространственному навыку у самок мышей BALB/c без патологии на фоне фабомотизола было сравнимым с показателями контрольной группы.

Таким образом, у мышей BALB/c с ФВС на P47-51 выявлен выраженный когнитивный дефицит в тесте «водный лабиринт Морриса», который не позволил достичь уровня обученности, необходимого для перехода к следующим этапам тестирования – воспроизведению и реверсии пространственного навыка, позволяющим оценить пространственную память и когнитивную ригидность.

Фабомотизол не улучшал обучения самцов BALB/c с ФВС пространственному навыку в водном лабиринте, но облегчал отмеченный когнитивный дефицит у самок.

Оценка поведения самцов мышей BALB/c всех групп в тесте «социальное взаимодействие» на P52-55 не выявила различий по числу заходов животных в отсеки, содержащие разные по социальной значимости объекты, что свидетельствует о равной двигательной активности животных (табл. 26). При этом самцы мышей с ФВС, не получавшие лечения, 36% времени наблюдения проводили в центральном отсеке, что возможно, свидетельствует о наличии тревожного компонента, в то время как продолжительность нахождения в центре установки самцов мышей групп «Контроль» и «ВПК+Фабомотизол» была значимо меньше и равнялась примерно 19% от всего времени наблюдения. Самцы мышей группы «ВПК» достоверно меньше контактировали с несоциальным объектом, а продолжительность контактов, как с социальным, так и с несоциальным объектом, была значимо ниже в сравнении с контрольными животными (табл. 26). У самцов групп «Контроль» и «ВПК+Фабомотизол» продолжительность нахождения в отсеках с разными по социальной значимости объектами и контактов с ними, как при межгрупповых, так и при внутригрупповых сравнениях, была сопоставима (табл. 25), что свидетельствует о сниженной способности данной линии мышей в распознавании социальных стимулов, и о возможном предотвращении усугубления социального дефицита, характерного для РАС, фабомотизолом.

Самки мышей BALB/c группы «ВПК» в тесте «социальное взаимодействие» демонстрировали повышение двигательной активности, достигавшей значимого различия по сравнению с группой «ВПК+Фабомотизол». При этом, различий по числу посещений разных по социальной значимости отсеков, у самок все тестируемых групп, также как и у самцов, не обнаружено (табл. 26).

Самки мышей группы «ВПК», также как и самцы, проводили в центральном отсеке больше времени (28% от всего времени наблюдения), чем животные двух других групп, при этом длительность их нахождения в отсеке с социальным объектом, продолжительность и число контактов с ним было значимо меньше, чем у животных группы «Контроль». Самки мышей группы «ВПК» не оказывали предпочтения социальному объекту, что проявилось в значимом снижении числа и длительности контактов с ним, а также продолжительности нахождения в отсеке с социальным объектом по сравнению с соответствующими данными, регистрируемыми относительно несocialного объекта (табл. 26). Полученные данные свидетельствует о выраженном дефиците социального взаимодействия у самок BALB/c с экспериментальным РАС.

Таблица 26 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «социальное взаимодействие», Mean±SEM

Группа, число / параметр	Число заходов в отсек		Число контактов		Длительность нахождения в отсеке			Длительность контакта	
	с мышью	без мыши	с мышью	без мыши	центр	с мышью	без мыши	с мышью	без мыши
Самцы									
Контроль, n=8	9,0± 1,0	8,35± 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	6,75± 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 достоверность различий при внутригрупповом сравнении; Ф – фабомотизол.

Фабомотизол, при его хроническом введении, улучшил показатели социального взаимодействия у самок BALB/c с ФВС, что выразилось в увеличении на 34% (p<0,05)

длительности контакта с социальным объектом по сравнению с несоциальным (внутригрупповое сравнение), а также в увеличении на 64,8% длительности нахождения в отсеке с социальным объектом, и на 54,8% – контакта с ним, по сравнению с группой «ВПК» (табл. 26).

Таким образом, у самцов BALB/c с ФВС наблюдалось индифферентное поведение по отношению к новым объектам независимо от их социальной принадлежности, а также повышение тревожности, тогда как поведение самцов с ФВС, получавших фабомотизол, было тождественно поведению мышей группы «Контроль». Социальное поведение самок BALB/c с ФВС отличалось от поведения самцов той же группы, более выраженным дефицитом социального взаимодействия. Фабомотизол уменьшал отмеченное нарушение, вызывая у самок BALB/c с ФВС стойкое предпочтение социального объекта. Таким образом, самки BALB/c с ФВС избегали социальных контактов, а введение фабомотизола приводило к улучшению социального взаимодействия до уровня контрольных животных.

В тесте «социальное узнавание» самцы BALB/c с ФВС продолжали оказывать предпочтение центральному отсеку по сравнению с другими группами мышей. При этом, хотя у самцов мышей группы «ВПК» количество контактов с новой мышью и продолжительность нахождения в отсеке с ней была значимо больше, соответствующих показателей для стимульной знакомой мыши, продолжительность контактов с обоими объектами была на 40,8 и 38,6% меньше, чем у животных групп «Контроль» и «ВПК+Фабомотизол», соответственно (табл. 27). Продолжительность контактов самцов контрольной группы и группы ФВС, получавшей фабомотизол с новой мышью относительно знакомой была на 58,2 и 54,8% значимо выше, соответственно, тогда как в группе мышей «ВПК» она составила только 33,1%.

Самки BALB/c группы «Контроль» не оказывали предпочтения какому-либо из объектов, так же, как и самки с ФВС, получавшие фабомотизол. Однако самки группы «ВПК» проводили в отсеке с новой мышью значимо больше времени, чаще и дольше контактировали с ней, чем со знакомой мышью (табл. 27).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у самцов мышей линии BALB/c с ФВС в тесте «социальное узнавание» отмечалось снижение предпочтения к исследованию новизны, что выразилось в отсутствии различий в продолжительности контактов со знакомым и новым социальными объектами. Введение фабомотизола улучшало реакцию мышей BALB/c с ФВС на новизну до контрольных значений.

Таблица 27 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «социальное узнавание», Mean±SEM

Группа, число / параметр	Число контактов, ед		Длительность, с				
			нахождения			контакта	
	с незнакомой мышью	со знакомой мышью	в центр. отсеке	в отсеке с незнакомой мышью	в отсеке со знакомой мышью	с незнакомой мышью	со знакомой мышью
Самцы							
Контроль, n=8	20,0± 1,9	18,0± 0,7	169,0± 25,7	237,8± 18,0	192,9± 16,5 p<0,09&	114,7± 9,7	72,5± 7,0&
ВПК, n=8	17,3± 1,6	11,8± 1,6*&	224,2± 28,3	231,9± 10,9	153,4± 23,8&	67,9± 12,2*	51,0±7,0 p<0,09*
ВПК+Ф, n=8	16,4± 1,7	13,0± 1,3	151,4± 8,8#	236,9± 20,8	208,7± 25,8	110,5± 11,8#	71,4±7,4& p<0,09#
Самки							
Контроль, n=8	16,9± 1,7	15,8± 1,7	192,2± 24,2	205,1± 19,3	204,9± 23,5	91,9± 10,8	75,5± 5,5
ВПК, n=9	16,7± 0,9	12,8± 1,5&	185,4± 18,7	251,1± 21,5	162,3± 12,0*&	103,2± 12,8	68,8± 9,1&
ВПК+Ф, n=8	12,9±2,1 p<0,09*	12,8± 1,4	151,5± 33,1	198,4± 31,2	249,9± 29,3#	90,1± 17,4	71,5± 7,4

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с группой «Контроль», # – p<0,05 по сравнению с группой «ВПК»; & – p<0,05 достоверность различий при внутригрупповом сравнении; Ф – фабомотизол.

Замечено, что грызуны, подвергшиеся воздействию ВПК, менее склонны к новизне. В целом было обнаружено, что это предпочтение знакомства может не зависеть от социального контекста, поскольку грызуны, подвергшиеся воздействию ВПК, проявляют предпочтение к знакомому объекту, как в социальной, так и в не социальной областях. Действительно, результаты рассмотренных исследований на грызунах согласуются с поведением, наблюдаемым у детей с РАС, которые часто чувствуют себя более комфортно со знакомыми предметами, а также с людьми [86].

Вероятно, у самок мышей BALB/c групп «Контроль» и «ВПК+Фабомотизол», характерная для линии социальная дискриминация была еще более выражена, чем у самцов – животные данных групп предпочтений к исследованию нового социального объекта не демонстрировали. Однако у самок группы «ВПК» отмечался противоположный эффект: рост интереса к «новой» мыши относительно «знакомой», что требует дальнейшего изучения.

Видоспецифичным / типичным для грызунов, преимущественно ведущих ночной образ жизни, является превалирование использования обоняния наряду с тактильными и слуховыми ощущениями для определения социального и несоблюдения поведения и успешного выживания вида. Способность распознавать запахи и различать их необходима грызунам для получения информации о наличии пищи, присутствии хищников, о половой принадлежности,

возрасте, статусе доминирования представителей вида и для определения выражения адаптивного поведения в социальных условиях [325].

У пациентов с РАС отмечаются нарушения обоняния, которые рассматриваются как отражение патологии нервных узлов, связанных с обонянием, например, обонятельной луковицы и вентральной височной обонятельной коры, имеющих место при этих расстройствах [82]. У детей с РАС наблюдается сниженная способность к идентификации запаха [303].

Известно, что грызуны передают различную индивидуальную информацию посредством запахов, и эти сигнальные процессы опосредуются центральным социальным гормоном, окситоцином [56]. Назальное введение окситоцина (ОТ) мышам-стимуляторам в тесте «Социального узнавания» увеличивало контактность мышей C57Bl/6, также как и системное введение буспирона (агониста 5-HT_{1A}), в то время как инфузия назального антагониста ОТ с последующей системной инъекцией буспирона стимулирующим мышам блокировала этот процесс, что указывает, что путь 5-HT → ОТ является основным модулятором социальных «дружественных» сигналов. При этом мыши BALB/c изменений в социальном поведении в данных условиях не обнаруживали, что свидетельствует как о наличии дефицита в распознавании социальных сигналов, так и о особенностях серотониновой и окситоциновой систем у мышей данной линии [55]. В целом, социальная дискриминация в тесте «социального узнавания» определяется не только показателями памяти (знакомство со стимульными животными), но и их обонятельными характеристиками. Таким образом, пренатальное введение ВПК самцам мышей BALB/c, усилило, характерные для линии проявления социальной дискриминации, а введение фабомотизола их корректировало, возвращая к контрольным показателям.

Мыши с ФВС в тесте «Построение гнезда» (P56-57) независимо от пола демонстрировали снижение поведенческой видовой активности, направленной на обеспечение терморегуляции и процессов размножения, что выразилось в значимом снижении числа полностью построенных гнезд на 39,5% у самцов и на 31,9% у самок, в отличие от мышей групп «Контроль». Мыши с ФВС, получавшие фабомотизол строили идеальное гнездо (кратер со стенами), так же как и животные контрольных групп (рис. 9).

В тесте «Закапывания шариков» самцы мышей линии BALB/c (P57-P58) демонстрировали снижение поведенческой активности, проявляющееся на протяжении всего времени наблюдения (1 час). У самцов мышей группы, пренатально получавших «ВПК», отмечалось еще большее снижение активности, отмеченной в контрольной группе: первые закопанные шарики появились только через 15-20 минут после начала тестирования, а к 55 минуте их число не превышало 3, что было в 2 раза меньше, чем в контрольной группе (табл.

28). Подобное поведение мышей BALB/c с ФВС возможно связано с их повышенной тревожностью или с нарушением видового поведения.

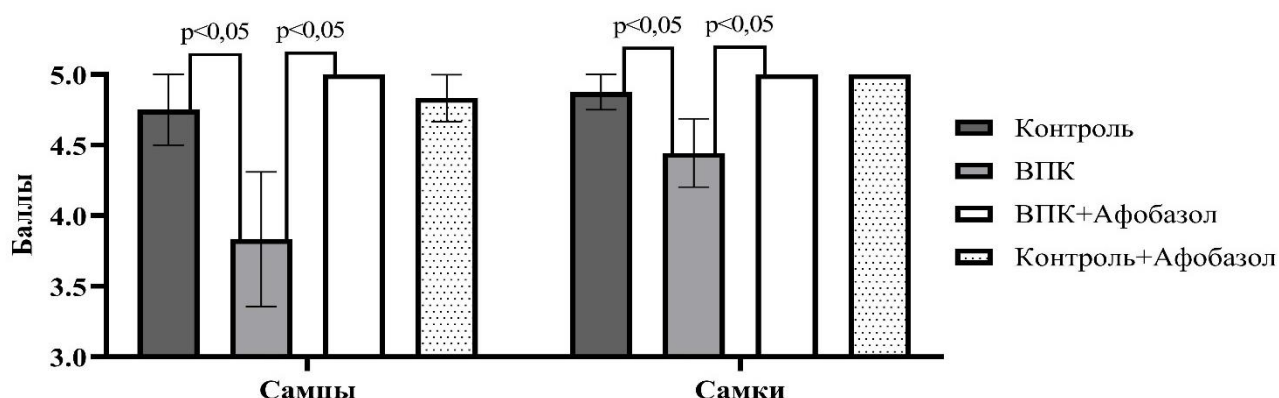


Рисунок 9 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/c с ФВС в тесте «Построение гнезда», Mean ± SEM

Таблица 28 – Влияние фабомотизола на поведение мышей линии BALB/c с ФВС в тесте «закапывание шариков» (Mean ± SEM)

Группа, число мышей / показатель	Число закопанных шариков, ед.											
	Интервал наблюдения – каждые 5 минут в течение 1 часа											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Самцы												
Контроль, n=10	0,0±0,0	0,8±0,8	0,8±0,8	1,0±0,7	1,3±0,6	2,8±1,8	3,0±1,7	3,0±1,7	3,0±1,7	3,5±1,5	5,3±1,3	7,0±1,5
ВПК, n=9	0,0±0,0	0,0±0,0	0,2±0,2	0,3±0,3	1,0±0,7	1,3±0,7	2,0±0,9	2,2±0,9	2,2±0,9	2,3±1,0	2,7±1,0	5,0±1,1
ВПК+Фабомотизол, n=10	0,0±0,0	1,2±0,7#	1,6±1,1	2,0±1,0	2,7±1,3	3,2±1,5	3,6±1,4	3,9±1,4	4,3±1,4	5,4±1,5	6,3±1,7	7,0±1,8
Фабомотизол, n=10	2,2±0,5*	4,7±0,5*	4,8±0,2*	5,5±0,5*	6,2±0,6*	6,8±0,6*	6,7±0,2*	6,8±0,3*	6,5±0,4*	7,3±0,4*	7,7±0,2	7,7±0,4
Самки												
Контроль, n=10	0,0±0,0	0,4±0,4	0,8±0,4	0,8±0,4	0,9±0,4	1,0±0,4	1,1±0,4	1,8±0,4	2,4±0,7	3,1±1,0	3,4±1,1	3,9±1,2
ВПК, n=9	0,0±0,0	0,0±0,0	0,2±0,2	0,6±0,2	1,0±0,4	1,3±0,4	1,4±0,4	1,6±0,4	1,6±0,4	1,9±0,5	2,7±0,6	4,0±0,8
ВПК+Фабомотизол, n=10	0,1±0,1#	0,4±0,2#	0,9±0,4#	0,9±0,4	1,5±0,6	1,9±0,6	2,0±0,6	2,3±0,7	2,8±0,8	3,4±0,9	3,9±0,9	5,1±1,3
Фабомотизол, n=10	1,4±0,4*	3,0±1,1*	3,2±0,9*	3,2±1,0*	3,4±0,9*	4,2±1,0*	4,6±1,0*	5,4±1,3*	5,6±1,3*	6,2±1,2	6,8±1,0	6,8±1,0

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # – $p < 0,5$ по сравнению с группой «ВПК».

Фабомотизол снижал фобическиподобное состояние, характерное для РАС, и нормализовал видовое поведение животных, направленное на избавление от неизвестного, беспокоящего объекта у самцов мышей с ФВС, что проявлялось в увеличении числа закопанных шариков в сравнении с показателями мышей группы «ВПК» (табл. 28). Данное заключение подтверждается показателями группы самцов мышей BALB/c без патологии,

получавших фабомотизол, у которых, начиная с первых минут опыта и на протяжении 50 мин наблюдения, отмечалось значимое превышение числа закопанных шариков относительно значений контрольной группы, что с учетом фенотипических особенностей животных данной линии свидетельствует об уменьшении у них тревожного состояния на фоне препарата (табл. 28).

Поведение самок мышей BALB/c обеих групп «Контроль» и «ВПК» в тесте 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 животным без патологии приводило к значимому росту числа закопанных шариков с 5 по 45 минуты наблюдения по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 28).

Обычно мыши линий, не являющихся моделями обсессивно-компульсивного расстройства, через 10 минут помещения в условия опыта закапывают 25-50% шариков, а через 30 минут – 50-75% [110, 280], а введение анксиолитиков уменьшает данные показатели [301, 307]. Однако у мышей линии BALB/c, как с ФВС, так и без, в данном тесте отмечается низкая активность, которая увеличивается на фоне введения фабомотизола, как животным с патологией, так и без, что можно интерпретировать как положительное влияние препарата на снижение тревожности и нормализацию их типичного видового поведения (табл. 28).

В тесте «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом» поведение самцов мышей линии BALB/c с ФВС (Р61-62) не отличалось от поведения животных без патологии. Данное обстоятельство может быть объяснено тем, что мыши линии BALB/c изначально обладают аутизм-релевантным фенотипом с нарушениями в обонятельной сфере, особенно проявляющимися при предъявлении социальных запахов [82].

Введение фабомотизола самцам мышей с ФВС вызывало улучшение регистрируемых показателей в тесте «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом». Так, в группе «ВПК+Фабомотизол» отмечалось повышение в 2,7 раза латентного времени первого контактного подхода к источнику запаха хищника, тенденция к снижению в 1,3 раза числа заходов в рукав с запахом, а также уменьшение в 1,3 и 1,6 раз числа и продолжительности контактов ($p < 0,05$) с источником аверсивного запаха в сравнении с мышами BALB/c с ФВС (табл. 29).

Самки мышей BALB/c с ФВС проводили больше времени около источника аверсивного запаха по сравнению с контрольной группой, что сказалось в увеличении в 1,6 раза

продолжительности контакта с ним и тенденции к уменьшению времени нахождения в свободных от аверсивного запаха («чистых») рукавах лабиринта (табл. 29).

Таблица 29 – Влияние фабомотизола на поведение мышей BALB/с с ФВС в тесте «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом», Mean $\pm$ SEM

Группа, число мышей / показатель	ЛП, с		Число заходов, ед		Число контактов с запахом, ед	Длительность, с		
	захода в рукав с запахом	контакта с запахом	в рукав с запахом	в другие рукава		нахождения в		контакта с запахом
						рукаве с запахом	других рукавах	
Самцы								
Контроль n=10	8,7± 6,6	13,3± 6,4	10,3± 1,3	16,3± 2,2	10,8± 1,0	105,5± 9,6	156,1± 6,5	27,5± 8,4
ВПК, n=9	12,7± 3,8	19,1± 3,7	9,0± 0,7	14,5± 1,1	11,2± 0,8	115,0± 7,8	148,7± 8,3	30,0± 3,8
ВПК + Фабомотизол, n=8	19,8± 3,3	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	157,1± 8,6	18,7± 2,7 #
Фабомотизол, n=8	17,3± 4,7	109,0± 30,5*	6,0± 1,0*	12,8± 1,8	4,7± 0,7*	87,0± 6,1	173,6± 9,3	16,1± 3,4
Самки								
Контроль n=8	10,4± 3,5	16,4± 4,3	8,1± 0,9	15,6± 1,6	10,4± 1,2	108,8± 6,3	153,9± 4,8	30,1± 3,6
ВПК, n=9	11,4± 2,3	17,8± 2,6	8,4± 0,7	15,2± 1,7	12,8± 1,3	120,3± 11,7	137,1± 7,9 p<0,08*	48,5± 6,5*
ВПК + Фабомотизол, n=8	19,5± 3,4 p<0,08#	22,8± 2,4	5,3± 0,9#	13,3± 2,0	9,1± 0,7#	91,3± 8,1#	160,7± 9,9 p<0,08#	29,4± 3,1#
Фабомотизол, n=8	13,1± 3,4	85,9± 17,7*	6,8± 1,2	11,0± 1,7	5,4± 1,4*	115,0± 8,5	151,7± 14,0	14,6± 5,3*

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

Введение фабомотизола самкам с ФВС, как и в случае самцов, способствовало улучшению оборонительного поведения животных, что выразилось в уменьшении в 1,6 и в 1,3 раз числа заходов в рукав с запахом хищника и длительности нахождения в нем, соответственно, а также, в снижении в 1,4 и в 1,7 раз числа и длительности контакта с источником запаха, соответственно, а также в увеличении времени нахождения в «чистых» рукавах лабиринта (табл. 29).

Таким образом, в результате проведенного исследования, установлено, что у мышей линии BALB/с с ФВС ярким проявлением РАС является снижение социального взаимодействия, особенно выраженное у самок, снижение предпочтения к исследованию новизны, наблюдаемое у самцов, нарушение типичных характеристик видового поведения, таких как гнездование, проявлявшееся в снижении числа полностью построенных гнезд у

самцов и самок, и в снижении оборонительного поведения при предъявлении запаха хищника, более характерное для поведения самок.

Таким образом, фабомотизол (10 мг/кг, ежедневно, внутрь), вводимый с раннего постнатального периода (P7) до периода половой зрелости (P62), нивелировал большинство обусловленных ФВС нарушений социального поведения, 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, и приводил к улучшению видовой активности у представителей обоих полов, направленной как на обеспечение терморегуляции и процессов размножения (строительство идеального гнезда), так и на оборонительное поведение (избегание запаха хищника).

Полученные данные свидетельствуют о том, что фабомотизол на модели ФВС у мышей линии BALB способствует снижению нарушений социального взаимодействия, в том числе улучшению поведения, направленного на продолжение рода и его защиту.

ВПК, противоэпилептическое средство, хорошо известно своими тератогенными побочными эффектами, включая дефекты нервной трубки, лицевые аномалии, снижение интеллекта и высокий риск развития РАС. Причинно-следственная связь между пренатальным воздействием ВПК и развитием симптомов РАС подтверждается большим количеством исследований на животных [86, 188].

Механизмы действия ВПК на развитие РАС включают ингибирование гистон-деацетилазы, чрезмерную пролиферацию нейральных клеток-предшественников, изменение синаптического развития, передачи и пластичности, нарушение возбудимости нейронов, активности или формирования нейронной сети, например, наличие локальной гиперконнектности в коре головного мозга, увеличение плотности глутаматергических нейронов, нарушение созревания серотонинергических нейронов и увеличение количества активных форм кислорода [188, 206, 252].

Анксиолитик фабомотизол является агонистом сигма-1 рецепторов – внутриклеточного белка с функциями шаперона, ингибитором регуляторных сайтов хинонредуктазы-2 (NQO2/QR2; MT3-рецептор, $K_i = 0,97$ мкМ), обратимым и селективным ингибитором MAO-A ($K_i = 3,6$ мкМ), слабым агонистом мелатониновых рецепторов типа 1 (MT1-R, $K_i = 16$ мкМ) [10, 34, 289, 319].

Активированные сигма-1 рецепторы противодействуют нарушениям правильной укладки белковых молекул при эндоплазматическом стрессе, опосредуют регуляцию потенциалзависимых ионных каналов наружной мембраны и транспорт кальция через NMDA рецепторы, способствуют миграции липидных микродоменов к мембране клеток, уменьшая ее

повреждения, модулируют процессы передачи сигнала, в том числе за счет препятствия стресс-индуцированному падению связывания в бензодиазепиновом участке ГАМК-А рецепторов [34], оказывают влияние на комплекс каннабиноидных и глутаматных рецепторов с окислительно-восстановительным белком HINT1 (CB1R – HINT1 – GluN1), ингибируют пресинаптическое высвобождение глутамата и глутамат-индуцированной NO-синтазы и могут взаимодействовать с D1, D2-рецепторами и DAT и/или участвовать в регуляции их активности [319]. Свойства сигма-1 рецепторов обуславливают широкий спектр фармакологической активности их агонистов, в том числе анксиолитической, нейропротекторной, прокогнитивной и антидепрессивной.

Фабомотизол, взаимодействуя с сигма-1 рецепторами, оказывает модулирующее влияние на нарушенные при РАС в условиях модели ФВС нейромедиаторные системы мозга (ГАМК, глутаматную, серотонинергическую и другие), снижает окислительный стресс, в том числе посредством ингибирования хинонредуктазы-2, обеспечивая цитопroteкцию, что дает выраженный нейропротекторный эффект [9]. Данное положение подкрепляется результатами о способности фабомотизола повышать выживаемость нейронов в условиях оксидативного стресса и глутаматергической эксайтотоксичности [335]. В работе Kang J, Kim E. (2015) показано, что повышенная активность глутаматных рецепторов у крыс с ФВС сопровождается ростом социального дефицита, а фармакологическое подавление данной активности приводит к его уменьшению [188].

Таким образом, результаты настоящего исследования и ранее проведенные работы позволяют заключить, что фабомотизол по механизму действия и спектру фармакологических эффектов может оказаться перспективным препаратом для фармакотерапии РАС.

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами:

[3]

3.6. Изучение изменений уровней моноаминов и влияния фабомотизола на них при РАС у мышей линии BALB/c с ФВС на разных сроках их постнатального развития

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

На сегодняшний день среди различных гипотез патогенеза РАС существуют нейрохимические гипотезы, которые рассматривают генез РАС в связи с нарушениями формирования нейротрансмиттерных систем. Некоторые авторы отмечают, что наибольшее значение нейрохимические гипотезы имеют в отношении этиологии эндогенных аутистических расстройств [38, 42].

Показано, что у пациентов с РАС нарушена возрастная динамика моноаминергических нейромедиаторов, оцениваемая по их содержанию спинномозговой жидкости, в частности: в 1 год и в 5 лет при аутизме отмечалось понижение 5-НТ (в 4,9-1,2 раза), DA (в 2,8 раза) и NA (в 1,2-1,4 раза); в 5-25 лет при коморбидности СДВГ и аутизма: понижение 5-НТ (в 1,3-2,1 раза), DA (в 1,9-3,7 раза) и NA (в 1,4-2,1 раза). Нарушения совпадают с критическими периодами формирования и созревания различных структур головного мозга [12, 164, 304].

Как нейротрансмиттер, 5-НТ участвует в регулировании эмоций, настроения, памяти и обучения. Катехоламины (дофамин, норадреналин и адреналин) — выполняют роль медиаторов и модуляторов как нервной, так и гуморальной регуляции. DA стимулирует внимание, память и эмоциональное вознаграждение при питании и игре. Норадреналиновая система контролирует внимание, запоминание, мобилизацию интеллектуальной и эмоциональной деятельности, мотивированное поведение, образное мышление [218].

Динамика уровней моноаминов в ЦНС у людей и грызунов несколько отличается (рис 10): к момент наступления половозрелости у грызунов уровни 5-НТ и DA достигают пиковых значений, когда у человека идет плавное снижение их уровней, а уровень NA после падения на первой недели жизни постепенно начинает нарастать у грызунов, но не у человека [114, 164, 165, 185].

В таблице 30 представлено содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга интактных мышей контрольной группы возрастом 64 дня, не подвергавшихся пренатальному воздействию ВПК, в дальнейших экспериментах величина этих параметров была принята за 100%. У самцов мышей BALB/c на P64 отмечалось значительное превалирование содержания NA, 5-НТ и его метаболита 5-НИАА в гипоталамусе, а концентрация DA и его метаболитов была максимальной в стриатуме, в отличие от соответствующих показателей в других структурах, что определяется локализацией определенных нейронов и путей иннервации различных отделов мозга. Так, клеточные тела DA-нейронов сосредоточены в черной субстанции, вентральной тегментальной области и

ретрорубральном поле и проецируются на базальные ганглии, обонятельные луковицы, лимбические области, гиппокамп и кору головного мозга. DA нейроны играют важную роль в двигательных и когнитивных программах, в регуляции цикла бодрствование-сон, вовлечены в механизмы награды и подкрепления, формирования наркотической и алкогольной зависимости. Префронтальная кора богата содержанием DA, что интересно с точки зрения ее важной роли в рассуждении, планировании, решении проблем и координации деятельности человека [164].

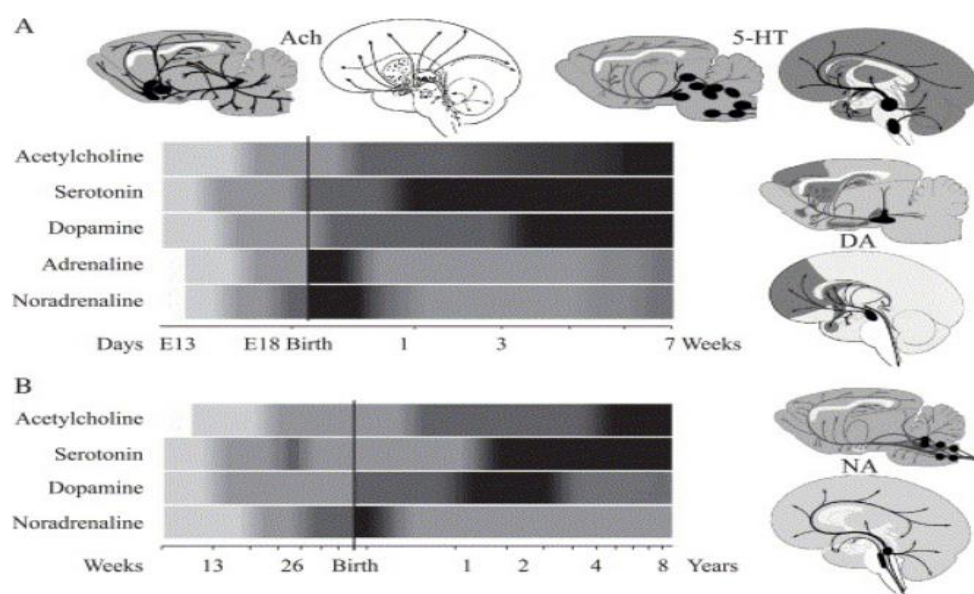


Рисунок 10 – Произвольные уровни моноаминов и ацетилхолина у (А) крысы и (В) человека в зависимости от возраста (10-логарифмическая шкала). Сагиттальные иллюстрации нервных ядер и проекций нейромедиаторных систем. Эмбриональный возраст (Е), выраженный в днях для крыс и неделях для людей, послеродовой возраст в неделях (крысы) и годах (люди) [164].

Таблица 30 – Содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга самцов мышей контрольной группы Р64 (пмоль/мг ткани), Mean $\pm$ SEM

Структура мозга / параметр	NA	DA	DOPAC	HVA	3-MT	DOPAC/DA	HVA/DA	5-HT	5-HIAA	5-HIAA/5-HT
Фронтальная кора	0,78 $\pm$ 0,26	0,23 $\pm$ 0,04	0,17 $\pm$ 0,05	0,41 $\pm$ 0,07	НПД	0,67 $\pm$ 0,12	2,11 $\pm$ 0,76	3,76 $\pm$ 0,30	1,05 $\pm$ 0,15	0,29 $\pm$ 0,04
Гипоталамус	35,12$\pm$2,08	10,39 $\pm$ 0,59	3,17 $\pm$ 0,18	3,77 $\pm$ 0,17	0,65 $\pm$ 0,16	0,31 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,01	18,94$\pm$0,63	16,72$\pm$1,34	0,88 $\pm$ 0,05
Стриатум	2,66 $\pm$ 0,49	160,64$\pm$10,17	8,19$\pm$0,28	25,59$\pm$0,67	9,80$\pm$0,34	0,05 $\pm$ 0,00	0,16 $\pm$ 0,01	7,31 $\pm$ 0,34	7,40 $\pm$ 0,36	1,02 $\pm$ 0,05
Гиппокамп	3,66 $\pm$ 0,78	0,83 $\pm$ 0,30	0,62 $\pm$ 0,15	1,05 $\pm$ 0,41	НПД	2,01 $\pm$ 1,20	2,60 $\pm$ 1,49	9,30 $\pm$ 1,18	8,08 $\pm$ 1,07	0,87 $\pm$ 0,06

NA-ергические нейроны локализованы в структурах ствола мозга и их отростки приходят в гипоталамус, к шейным отделам спинного мозга, в срединное возвышение, в стриатум, обонятельные бугорки и миндалевидный комплекс. Синтез NA происходит в задней части гипоталамуса и мозговом веществе надпочечников. Предполагается, что NA участвует в

возбуждении и внимании, страхе и тревоге, обучении и памяти. NA участвует в создании уровня бодрствования за счет торможения центров сна, в тормозной регуляции сенсорных потоков: позволяет сосредоточиться на сигналах, значимых здесь и сейчас; в процессах обучения и запоминания информации, протекающих в высших зонах ЦНС; в регуляции активности центров биологических потребностей и мотиваций в гипоталамусе и миндалине; в управлении общим уровнем двигательной активности, выключая тормозные нейроны в моторных центрах; влияет на выраженность эмоций и поведение: снижает уровень тревожности, увеличивает агрессию, уменьшает чувствительность к боли [28, 76]. NA, вероятно, также участвует в обонятельном обучении новорожденного, что имеет важное значение для распознавания матерью [164].

5-НТ-ергические нейроны локализуются в среднем мозге, шишковидной железе, черной субстанции, гипоталамусе и стволе головного мозга. Нейроны 5-НТ имеют широко распространенные проекции, позволяющие координировать сложные сенсорные и моторные паттерны во время различных поведенческих состояний.

Оценка уровня содержания моноаминов в различных структурах мозга самцов мышей BALB/c в их возрастной динамике выявила наличие значимых изменений нейрохимических профилей половозрелых животных возрастом 64 дня и мышат возрастом P15 в стриатуме и гипоталамусе, имевшие лишь точечные проявления в других структурах (табл. 31).

Так, у самцов мышей BALB/c на P64 в стриатуме отмечалось значимое повышение в 1,8 раза уровня содержания DA, сопровождаемое снижением концентрации его метаболитов DOPAC и HVA, что выразилось в значимом снижении показателей оборота катехоламина: DOPAC/DA и HVA/DA в 3 и 2,1 раз, соответственно, и ростом в 3 раза уровня 3МТ по сравнению с соответствующими показателями регистрируемыми на P15 (табл. 31). Одновременно, в стриатуме самцов мышей на P64 показано повышение в 1,8 раза содержания 5-НТ и снижение в 1,4 и 2,5 раз концентрации его метаболита 5-НIAA и показателя скорости утилизации: 5-НIAA/5-НТ, соответственно, относительно показателей группы «Контроль» на P15 (табл. 31). Уровень NA у мышей на P64 в стриатуме мозга был в 1,5 раза ниже, чем при регистрации на P15, но данный показатель не был статистически значимым.

В гипоталамусе мозга мышей BALB/c на P64 отмечалось повышение содержания NA и 5-НТ в 2,6 и 2 раз, соответственно, а также снижение показателей метаболизма DA: HVA и HVA/DA, и метаболита 5-НТ и скорости его утилизации: 5-НIAA и 5-НIAA/5-НТ, аналогично изменениям, зарегистрированным для стриатума, по сравнению с данными группы «Контроль» на P15 (табл. 31).

Во фронтальной коре различий по большей части регистрируемых показателей во всех возрастных периодах не обнаружено, за исключением роста содержания 5-НТ и снижением скорости его утилизации (5-Н1АА/5-НТ) у мышей на Р64 в сравнении с Р15 (табл. 31).

Оценка содержания моноаминов, их метаболитов и скорости их оборота в гиппокампе мышей линии BALB/с не выявила значимых изменений показателей в разных возрастных периодах, за исключением снижения уровней НВА и 5-Н1АА/5-НТ на 64 день постнатального развития по сравнению с данными мышей на Р15 (табл. 31).

Таким образом, уровень как катехоламинов (NA, DA), так и 5-НТ в структурах мозга мышат на 15 день постнатального развития был ниже, чем у взрослых животных (Р64). Как известно, созревание моноаминергических систем мозга у плода крысы происходит, начиная с третьего триместра беременности, и охватывает первые три недели постнатального периода, при этом содержание моноаминов в центральной нервной системе при рождении составляет 8-12% от концентрации у взрослых особей [203].

DA-ергические нейроны появляются на ранних стадиях развития в гестационном возрасте 10-15 дней у крыс [282] и 6-8 недель у человека, раньше у женщин, чем у мужчин. Оборот дофамина относительно высок в перинатальный период по сравнению с взрослыми особями [164].

Уровень DA в мозге к 2-х недельному возрасту соответствует примерно 50% от содержания у взрослых. К 4-х недельному возрасту содержание DA находится в пределах от 80% до 100% от значений этого параметра у взрослых крыс [203].

NA-ергические нейроны появляются на ранней стадии в ЦНС; 12-14-й день у крысы (общий гестационный возраст, 21 день) и 5-6 недель у человека [164].

5-НТ нейроны являются одними из самых ранних которые образуются в головном мозге (около E10-E12 у мыши и на 5-12-й неделе беременности у человека), аксоны которых проецируются в передний мозг и имеют важное значение для дифференцировки нейрональных предшественников. Избыток 5-НТ препятствует нормальному развитию соматосенсорной коры, что было продемонстрировано на мышах, нокаутированных моноаминоксидазой [164]. При рождении 5-НТ-ергические аксоны проникают во все слои коры, что заметно снижается примерно через 3 недели. Поглощение и накопление 5-НТ в развивающихся таламических нейронах происходит во время формирования соматосенсорной коры у мыши благодаря временной экспрессии высокоаффинного транспортера серотонина (SERT), и, по-видимому, необходимо для нормального развития и точной настройки сенсорных карт коры головного мозга в критический период их развития у грызунов [135]. Человеческие плоды имеют аналогичный ограниченный период экспрессии SERT (12-14 неделя беременности) когда развиваются тракты таламокортикальных волокон и происходит тонкая настройка корковых

сенсорных карт [318]. Мозг плода человека, особенно кора головного мозга и гиппокамп, демонстрирует пренатальный пик (16-22 неделя) плотности 5-HT_{1A} рецепторов [164]. Активация рецептора 5-HT_{1A} связана с усилением нейрогенеза, нейронной дифференцировки и созревания дендритов в гиппокампе. Концентрация 5-HT не должна быть ни слишком высокой, ни слишком низкой в критический период синаптогенеза и формирования мозговых связей. Проблемы с неправильным подключением из-за избыточной или неадекватной активации специфических рецепторов 5-HT во время развития могут быть вовлечены в генез психических расстройств, таких как тревожные расстройства, наркомания и аутизм [135].

По большинству регистрируемых нейрохимических показателей у мышей линии BALB/c на P42 отличий с соответствующими данными взрослых молодых животных (P64) не было, что определило включение в дальнейший анализ данных животных, забой которых проводился на 15 и 64 дни их постнатального развития. Также для оценки влияния фабомотизола на нейрохимические показатели мышей с ФВС использованы данные, полученные при выделении гипоталамуса и стриатума.

У мышей BALB/c, пренатально получавших ВПК, различий по содержанию моноаминов и их метаболитов в гипоталамусе на 15 день постнатального развития не отмечалось, за исключением тенденции к снижению уровня DOPAC ($p < 0,09$), однако на P64 в данной структуре выявлен значимый рост концентраций NA, DA ($p < 0,07$) и DOPAC, 5-HT, 5-HIAA и 5-HIAA/5-HT ($p < 0,06$) по сравнению с группой «Контроль» на P64 (табл. 32).

Оценка нейрохимического профиля в стриатуме самцов мышей с ФВС на P15 показала наличие выраженных изменений, характеризующихся низким уровнем моноаминергической нейротрансмиссии. Так, у мышей группы «ВПК P15» отмечалось снижение в 1,5 раза уровня NA ($p = 0,06$), в 1,6 раза – DA, в 2,1 раза – DOPAC, в 2,2 раза – HVA и в 1,3 раза – HVA/DA. Отличие в метаболической активности от соответствующей контрольной группы, возможно, связано со снижением активности тирозингидроксилазы – фермента, лимитирующего скорость синтеза DA под воздействием ВПК. Одновременно, в стриатуме мышей группы «ВПК» на P15 отмечалось значимое снижение содержания 5-HT и его метаболита – 5-HIAA (табл. 33).

У самцов мышей BALB/c группы «ВПК P64» в стриатуме мозга отмечался рост содержания NA ($p < 0,08$), превышающий показатели контрольных животных в этот возрастной период; уровень DA с 15 по 64 дни повышался, и к последнему дню не отличался от данных в контрольной группе (P64), а DOPAC – был значимо выше. Данный возрастной период характеризовался и ростом содержания 5-HT, а также 5-HIAA и 5-HIAA/5-HT в стриатуме мышей с ФВС относительно группы «Контроль» на P64 (табл. 33).

Таблица 31 – Содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга самцов мышей линии BALB/c на P15 и P42 (пмоль/мг ткани в % от показателей мышей на P64, принятых за 100%), Mean $\pm$ SEM

Группы / показатели	NA	DA	DOPAC	HVA	3-MT	DOPAC/DA	HVA/DA	5-HT	5-HIAA	5-HIAA /5-HT
Фронтальная кора										
Контроль P15	105,7 $\pm$ 43,7	94,3 $\pm$ 39,6	162,0 $\pm$ 85,6	134,9 $\pm$ 46,3	258,2 $\pm$ 71,5	177,8 $\pm$ 34,2	242,5 $\pm$ 94,2	48,4$\pm$ 8,4*	75,1 $\pm$ 10,8	157,1$\pm$ 12,8*
Контроль P42	195,6 $\pm$ 64,2	66,6 $\pm$ 19,9	94,9 $\pm$ 18,3	77,0 $\pm$ 9,5	111,2 $\pm$ 17,3	161,5$\pm$19,8 p<0,07*	134,0 $\pm$ 28,0	91,5 $\pm$ 9,8	80,1 $\pm$ 12,2	89,7 $\pm$ 13,6
Контроль P64	100,0 $\pm$ 24,4	100,0 $\pm$ 21,5	100,0 $\pm$ 23,3	100,0 $\pm$ 22,6	100,0 $\pm$ 8,2	100,0 $\pm$ 13,3	100,0 $\pm$ 28,0	100,0 $\pm$ 8,9	100,0 $\pm$ 10,9	100,0 $\pm$ 10,7
Гипоталамус										
Контроль P15	38,3$\pm$ 6,6**	86,5 $\pm$ 7,4	170,7 $\pm$ 42,6	319,0$\pm$ 71,7*	232,4 $\pm$ 74,6	210,6 $\pm$ 59,6	393,2$\pm$ 104,5*	51,2$\pm$ 3,0**	130,8$\pm$7,7 p=0,06*	256,3$\pm$ 4,2**
Контроль P42	184,1 $\pm$ 59,1	241,0 $\pm$ 83,2	301,5 $\pm$ 156,0	306,2 $\pm$ 156,4	298,4$\pm$72,5 p=0,07*	100,5 $\pm$ 14,5	104,0 $\pm$ 14,5	229,2 $\pm$ 75,7	234,9 $\pm$ 70,2	107,4 $\pm$ 6,3
Контроль P64	100,0 $\pm$ 5,7	100,0 $\pm$ 5,8	100,0 $\pm$ 5,0	100,0 $\pm$ 4,0	100,0 $\pm$ 19,7	100,0 $\pm$ 4,7	100,0 $\pm$ 2,5	100,0 $\pm$ 2,5	100,0 $\pm$ 7,4	100,0 $\pm$ 6,0
Стриатум										
Контроль P15	150,5 $\pm$ 25,6	57,3$\pm$ 7,3*	177,7 $\pm$ 32,2	127,9 $\pm$ 23,0	33,8$\pm$ 6,4***	298,2$\pm$ 23,4**	213,4$\pm$ 21,9*	55,8$\pm$ 5,7**	136,1$\pm$ 9,4*	246,7$\pm$ 8,5***
Контроль P42	109,1 $\pm$ 4,7	103,7 $\pm$ 4,4	129,1 $\pm$ 19,3	100,7 $\pm$ 13,2	112,5 $\pm$ 7,5	121,7 $\pm$ 13,1	94,7 $\pm$ 8,5	111,0 $\pm$ 8,9	124,8 $\pm$ 8,5	113,1 $\pm$ 4,8
Контроль P64	100,0 $\pm$ 18,3	100,0 $\pm$ 6,3	100,0 $\pm$ 3,5	100,0 $\pm$ 2,6	100,0 $\pm$ 3,5	100,0 $\pm$ 4,7	100,0 $\pm$ 7,5	100,0 $\pm$ 4,6	100,0 $\pm$ 4,8	100,0 $\pm$ 4,6
Гиппокамп										
Контроль P15	71,8 $\pm$ 21,0	282,7 $\pm$ 146,7	152,9 $\pm$ 18,4	410,3$\pm$ 93,9*	85,0 $\pm$ 32,2	44,3 $\pm$ 14,6	114,5 $\pm$ 28,8	58,8 $\pm$ 14,8	112,6 $\pm$ 32,0	194,3$\pm$ 18,1**
Контроль P42	108,4 $\pm$ 42,0	414,6$\pm$ 97,7*	174,4 $\pm$ 53,4	172,0 $\pm$ 63,1	93,0 $\pm$ 31,2	27,0 $\pm$ 13,2	30,1 $\pm$ 13,0	126,4 $\pm$ 45,5	114,7 $\pm$ 33,4	99,6 $\pm$ 10,2
Контроль P64	100,0 $\pm$ 16,8	100,0 $\pm$ 26,2	100,0 $\pm$ 24,1	100,0 $\pm$ 44,8	100,0 $\pm$ 27,7	100,0 $\pm$ 61,9	100,0 $\pm$ 62,8	100,0 $\pm$ 11,5	100,0 $\pm$ 13,7	100,0 $\pm$ 6,5

Примечание: p <0,05, p <0,01, p <0,001 достоверность отличий по сравнению показателем мышей на P64, P – день постнатального развития.

Таблица 32 – Влияние фабомотизола на содержание моноаминов и их метаболитов в гипоталамусе самцов мышей линии BALB/c с ФВС на P15 и P64 (пмоль/мг ткани в % от показателей мышей на P64, принятых за 100%), Mean ± SEM

Группы / показатели	NA	DA	DOPAC	HVA	3-MT	DOPAC/DA	HVA/DA	5-НТ	5-HIAA	5-HIAA/5-НТ
Контроль P15	38,3±6,6	86,5±7,4	170,7±42,6	319,0±71,7	232,4±74,6	210,6±59,6	393,2±104,5	51,2±3,0	130,8±7,7	256,3±4,2
ВПК P15	43,0±7,3	75,2 ±11,9	99,2±12,7 p<0,09*	215,7±41,7	231,1±80,2	137,0±9,4	298,0±55,5	60,8±11,5	165,0±29,8	278,1±20,4
ВПК+ Фабомотизол P15	32,4±6,7	48,1±10,5 p<0,07*	35,8±8,8*#	210,2±103,5	83,5±21,3	83,0±16,2#	997,0±728,1	49,6±11,2	90,5±15,3	200,7±24,5 p<0,07#
Контроль P64	100,0±5,7	100,0 ±5,8	100,0±5,0	100,0±4,0	100,0±19,7	100,0±4,7	100,0±2,5	100,0±2,5	100,0±7,4	100,0±6,0
ВПК P64	134,0±8,4*	144,2±14,7 p<0,07*	140,5±10,9*	169,2±30,5	92,2±17,5	98,8±5,4	116,1±12,9	147,8±12,8*	182,6±15,6**	124,8±7,0 p<0,06*
ВПК+ Фабомотизол P64	94,7±16,7 p<0,08#	288,9±175,7	113,0±32,4	180,2±57,9	319,0±135,0	67,8±9,6*#	111,4±23,2	107,3±13,0#	108,5±9,7###	105,8±6,9 p=0,09#

Примечание – *, ** - p<0,05, p<0,01, достоверность отличий по сравнению с показателем мышей контрольной группы того же возраста; #,## - p<0,05, p<0,01 достоверность отличий по сравнению с группой, получавшей ВПК, того же возрастного периода.

Таблица 33 – Влияние фабомотизола на содержание моноаминов и их метаболитов в стриатуме самцов мышей линии BALB/c с ФВС на P15 и P64 (пмоль/мг ткани в % от показателей мышей на P64, принятых за 100%), Mean $\pm$ SEM

Группы / показатели	NA	DA	DOPAC	HVA	3-MT	DOPAC/D A	HVA/DA	5-HT	5-HIAA	5-HIAA/ 5-HT
Контроль P15	150,5 $\pm$ 25,6	57,3 $\pm$ 7,3	177,7 $\pm$ 32,2	127,9 $\pm$ 23,0	33,8 $\pm$ 6,4	298,2 $\pm$ 23,4	213,4 $\pm$ 21,9	55,8 $\pm$ 5,7	136,1 $\pm$ 9,4	246,7 $\pm$ 8,5
ВПК P15	103,8$\pm$6,3 p=0,06*	37,0 $\pm$ 2,4*	86,4$\pm$ 14,2*	59,3 $\pm$ 3,0**	24,7 $\pm$ 3,0	228,7 $\pm$ 27,1	160,0 $\pm$ 4,6*	42,4 $\pm$3,0 p=0,06*	107,4 $\pm$7,3 p=0,06*	260,6 $\pm$ 25,6
ВПК+ Фабомотизол P15	175,8$\pm$ 20,9##	30,5 $\pm$ 6,4*	37,2 $\pm$ 1,5***#	37,6 $\pm$ 5,3***#	43,3 $\pm$ 12,3	149,5 $\pm$ 29,0*	134,0$\pm$13,4* p=0,07#	60,8 $\pm$ 7,5#	95,4 $\pm$ 7,7*	165,1 $\pm$ 15,4***#
Контроль P64	100,0 $\pm$ 18,3	100,0 $\pm$ 6,3	100,0 $\pm$ 3,5	100,0 $\pm$ 2,6	100,0 $\pm$ 3,5	100,0 $\pm$ 4,7	100,0 $\pm$ 7,5	100,0 $\pm$ 4,6	100,0 $\pm$ 4,8	100,0 $\pm$ 4,6
ВПК P64	164,0$\pm$17,0 p<0,08*	109,7 $\pm$ 6,9	122,6$\pm$ 3,9*	118,1 $\pm$ 8,6	109,7 $\pm$ 7,8	112,5 $\pm$ 4,9	106,0 $\pm$ 3,0	127,3$\pm$7,5 p<0,07*	162,4 $\pm$ 8,3**	119,9 $\pm$ 5,6 p<0,08*
ВПК+ Фабомотизол P64	224,7 $\pm$ 86,3	85,7 $\pm$ 4,9#	81,2$\pm$ 4,8***	69,7 $\pm$ 5,5***#	97,6 $\pm$ 12,6	94,1 $\pm$ 1,8##	80,2 $\pm$ 4,2***	133,0 $\pm$ 11,9	109,5 $\pm$ 7,8##	84,4 $\pm$ 7,4##

Примечание – *, ** - p<0,05, p<0,01, достоверность отличий по сравнению с показателем мышей контрольной группы того же возраста; #,## - p<0,05, p<0,01 достоверность отличий по сравнению с группой ВПК того же возрастного периода.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разнонаправленности или отставании процессов связанных с оборотом моноаминов у мышей с экспериментальным РАС: в контрольной группе мышей BALB/c высокие уровни моноаминов и их метаболитов на P15, снижаются, или, в случае низкого их содержания, умеренно возрастают к 64 дню постнатального развития, а в группе мышей пренатально получавших ВПК изначально низкий уровень регистрируемых моноаминов и их метаболитов с P15 по P64 значительно возрастает, превышая контрольные значения.

ВПК снижает активность DA-ергической системы префронтальной коры, при этом, как острое, так и хроническое введение атипичных нейролептиков рисперидона и арипразола потомству самок, которым вводили ВПК, вызывает увеличение внеклеточного содержания DA в префронтальной коре и ослабление социальной изоляции [153]. У мышат с пренатальным введением ВПК на P7 показано отсутствие каких-либо изменений содержания DA в структурах ниграстриарной системы при существенном уменьшении количества DA-ергических нейронов в мезолимбической системе (прилежащее ядро) [50].

Предполагается, что аутизм связан с гипосеротонизмом во время внутриутробной жизни, но также и с гиперсеротонизмом в постнатальном периоде [96]. 5-НТ быстро синтезируется в высоких концентрациях у маленьких детей. Эта чрезмерная активность снижается у нормальных, но не у аутичных детей [164].

В гипоталамусе мышей с ФВС, получавших в течение 7 дней фабомотизол на P15 отмечалось снижение концентрации DA и его метаболитов в сравнении с показателями групп «Контроль» на P15 и «ВПК» на P15.

Введение фабомотизола в течение 2-х месяцев (с P7 по P64) мышам с ФВС вызывало нормализацию нейрохимического профиля, нарушенного пренатальным введением ВПК: содержанием NA, 5-НН и его метаболитов в гипоталамусе мозга было сравнимым с показателями группы «Контроль» на P15 и значимо меньше относительно соответствующих данных группы «ВПК» на P64 (табл. 32). Различий в содержании DA и его метаболитов в гипоталамусе мышей группы «ВПК+Фабомотизол» на P64 в сравнении с показателями других групп не выявлено (табл. 32).

Недельное введение фабомотизола самцам мышей BALB/c с ФВС с (P7 до P15), вызывало значимое повышение в стриатуме уровней NA и 5-НТ, сниженные в группе «ВПК» на P15, до контрольных значений. Содержание DA, его метаболитов и скорости оборота (DOPAC, HVA, DOPAC/DA, HVA/DA) в стриатуме мышей группы «ВПК+Фабомотизол» на P15 было значимо ниже соответствующих значений группы «Контроль» и, в большинстве случаев, – группы «ВПК» на P15.

Хроническое введение фабомотизола в течение 2-х месяцев мышам с ФВС вызывало умеренное повышение уровней содержания DA, DOPAC, HVA, 3-MT и, соответственно, снижение показателей DOPAC/DA и HVA/DA в стриатуме. При этом уровни содержания DA, 3-MT, DOPAC/DA не отличались от контрольных показателей на P64, а концентрации DOPAC, HVA, HVA/DA были достоверно ниже их. Одновременно отмечалось значимое снижение основных показателей дофаминергической нейротрансмиссии: DA, DOPAC, HVA, DOPAC/DA, HVA/DA в стриатуме мышей группы «ВПК+Фабомотизол» на P64 относительно данных группы «ВПК» на P64 (табл. 33).

У мышей группы «ВПК+Фабомотизол P64» различий по содержанию 5-HT в стриатуме по сравнению с другими экспериментальными группами не обнаружено, однако показатели метаболизма серотонина – 5-HIAA и 5-HIAA/5-HT были достоверно ниже соответствующих значений группы «ВПК» на P64 (табл. 33).

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами:

[26]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

РАС – популяционно распространенная медико-социальная проблема, так как вследствие развития основной триады нарушений (сниженное социальное взаимодействие, нарушенная коммуникация, повторяющийся репертуар поведения при ограниченности интересов), часто требующей дополнительного надзора и ухода за пациентом, не происходит его социальной адаптации и полноценного участия в жизни общества [2, 65].

На текущий момент остается нерешенным ряд проблем при данной патологии: вследствие полиэтиологичности и неоднородности патогенеза заболевания [32] существует множество форм и проявлений РАС, что сопровождается трудностями при воспроизведении и моделировании расстройства, отсутствием адекватной мультитаргетной патогенетической терапии.

В исследовании в качестве идиопатической модели РАС использованы мыши линии BALB/c. Согласно данным литературы, мыши линии BALB/c, демонстрируют признаки схожие с РАС, в числе которых низкий уровень социальных взаимоотношений, снижение различных аспектов материнского поведения, высокий уровень тревожности и межсамцовой агрессии [79, 191]. У мышей BALB/c, также как и при РАС у человека, обнаружен дисбаланс уровня серотонина в мозге, увеличение объема и массы головного мозга, прежде всего, размеров гиппокампа, мозжечка, изменение размеров миндалевидного тела, недоразвитость мозолистого тела и внутренней капсулы [60, 79, 241], уменьшение лобных и теменно-височных долей [120]. Установлено, что у мышей BALB/c реакция страха сопровождается падением связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМК_A-рецептора [331], и также показано длительное снижение уровня BDNF в структурах мозга при стрессовом ответе, что подтверждает недостаточность адаптивных механизмов у мышей данной линии [231].

Наличие поведенческих и нейроанатомических признаков у мышей BALB/c, сходных с проявлениями РАС у человека [79, 241], позволяет полагать, что данная линия мышей может служить моделью для изучения патогенеза заболевания, по крайней мере, определенного его подтипа, и его фенотипических проявлений, а также для оценки действия возможных средств коррекции различных проявлений РАС.

В связи с вышеизложенным на первом этапе исследования был проведен сравнительный анализ поведенческих особенностей мышей линий BALB/c, SHK и C57Bl/6 в серии тестов. По результатам теста социального взаимодействия, мыши линии BALB/c определяются как «малообщительные» животные, демонстрирующие низкий уровень социального взаимодействия, что находит подтверждение в исследованиях других авторов [241, 330].

Результаты, полученные в ходе выполнения тестов «откапывание еды», «обонятельной дискриминации» и «обонятельной габитуации/дисгабитуации» свидетельствуют о возможном

нарушении у мышей линии BALB/c способности интерпретировать запахи, нарушении обонятельной габитуации и, особенно, о стойком избегании социальных стимулов: однако наличие разных поведенческих реакций на социальные и несоциальные запахи подтверждает способность данной линии мышей корректно различать стимулы разной природы, что приводит к заключению о превалировании нарушений социального, а не ольфакторного характера.

Для мышей линии BALB/c в тесте «обонятельной габитуации/дисгабитуации» была показана повышенная стереотипия, регистрируемая по числу закапываний животных в подстилку, а в тестах «обследование отверстий» и «открытое поле со сменой освещенности» – низкой исследовательской активностью в сочетании с выраженной тревожностью.

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 определенных черт РАС и оценки эффективности терапевтических средств для уменьшения симптомов РАС.

В настоящее время не существует единой концепции патогенеза РАС, возможно, еще и потому, что к развитию аутизма могут приводить различные механизмы. Большинство теорий предполагают, что развитие РАС связано с нарушением процесса нормального созревания центральной нервной системы и, как следствие, искажением процесса нормального развития психических функций. Выявлено, что в основе РАС лежит избыточное образование синаптических связей и общее увеличение размера головного мозга в первые годы жизни ребенка, которое приводит к нарушению формирования специфических связей между ключевыми областями мозга, в частности отвечающими за социальное и коммуникативное развитие [261]. Имеются данные о наличии нарушения миграции нейронов, происходящем в первый и второй триместры беременности, что приводит к изменениям функционирования ключевых для социального взаимодействия областей головного мозга; отмечены изменения в морфологии нейронов в виде преобладания удлинённых и тонких дендритных шипиков, образующих синапсы [117].

Помимо морфологических изменений описаны нарушения работы нейротрансмиттеров, в частности, дисбаланс серотонина [48, 89, 94, 121, 173, 245] и дофамина [90, 109, 123, 162, 287], дисбаланс между глутаматергической и ГАМК-ергической нейромедиаторными системами [140, 151], нарушение работы холинэргической системы [127, 228, 313, 321] и других. Так или иначе, до настоящего времени не описано единого механизма формирования РАС как на биохимическом, так и на органном уровне. Аутизм, вероятнее всего, возникает как

следствие патологического влияния различных факторов, оказывающих множественное разнообразное влияние на сам процесс развития нервной системы. С учетом вышесказанного, возникает запрос на поиск препаратов и мишеней, устраняющих нейротрансмиттерный дисбаланс и недостаточность естественных защитных механизмов.

Сигма-1 рецепторы локализируются в высоких концентрациях в структурах головного мозга, ответственных за память, эмоции, сенсорное восприятие и тонкую моторику (гиппокампе, миндалевидном теле, зубчатой извилине, гипоталамусе, обонятельной луковице, голубом пятне, красном ядре, черной субстанции и медиофронтальной коре) [8] и оказывают модулирующее влияние на все основные нейромедиаторные системы: ГАМК-, серотонин-, норадрен-, дофамин-, холинергические системы и NMDA-регулируемые глутаматные эффекты, а также на пластические и трофические процессы в ЦНС [249]. При этом сигма-1 рецепторы проявляют активность только в условиях нарушения нейромедиаторного баланса, что позволяет рассматривать их в качестве мишени для лечения РАС.

Фабомотизол – небензодиазепиновый анксиолитик, агонист сигма-1- и мелатониновых MT1-рецепторов, ингибитор регуляторных сайтов хинонредуктазы-2, обратимый селективный ингибитор МАО-А [34]. При активации сигма-1 рецепторов фабомотизолом достигаются анксиолитический, нейро- и кардиопротекторный эффекты, улучшение когнитивных функций. На основании имеющихся данных, на втором этапе исследования произведена оценка действия фабомотизола на особенности поведения мышей линии BALB/c, обладающих аутичноподобным фенотипом.

В тесте «социальное взаимодействие» введение фабомотизола мышам линии BALB/c сопровождалось снижением социального дефицита, ростом уровня предпочтения социального объекта. Оценка влияния фабомотизола на когнитивную ригидность – высокоуровневое проявление стереотипного поведения, проявляющееся в затруднении смены ментальных установок и наличии навязчивых интересов, показала способность препарата облегчать процесс переобучения у мышей линии BALB/c, что выражалось в увеличении скорости принятия новой обстановки и повышении эффективности решения измененной задачи.

У мышей линии BALB/c снижена способность к адаптации, как при изменении ранее освоенного шаблона поведения, так и в поддержании нового комплекта реакций. Данное поведение мышей BALB/c обусловлено фенотипом ответа на стресс в новой обстановке, характеризующемся как «freezing» реакция, что нейрохимически сопровождается падением бензодиазепиновой рецепции [46]. Мыши линии BALB/c отличаются исходно низкими уровнями NMDA-рецепторов и связывания бензодиазепинов в гиппокампе и префронтальной коре [23]. В то же время известно, что при тревоге увеличивается ригидность и ритуализация поведения [205]. Сходный с мышами линии BALB/c аутизм-релевантный профиль имеют

мыши инбредной линии BTBR [60], для которых показано уменьшение стереотипного поведения при введении R-баклофена – селективного агониста ГАМК_B-рецепторов [293].

Фабомотизол оказывает противотревожную активность, посредством активации шаперонной функции сигма-1 рецептора, нормализуя стрессиндуцированное падение рецепции в бензодиазепиновом участке ГАМК_A-рецептора [46]. Кроме того, в гиппокампе, играющим важную роль в адаптивном поведении, связанном с составлением пространственных когнитивных карт, обучением и памятью находится большое скопление сигма-1 рецепторов, которые в условиях нарушения нейромедиаторного баланса, модулируют NMDA-нейротрансмиссию; могут усиливать спонтанный выброс глутамата в гиппокампе, потенцировать индуцированное глутаматом выделение нейротрофического фактора, а также участвовать в процессах синаптической перестройки [98]. Приведенные данные объясняют позитивное влияние фабомотизола на уменьшение когнитивной ригидности и улучшение адаптационных процессов, уменьшение стереотипии.

Фабомотизол ускорял габитуацию – форму неассоциативного обучения, направленного на ослабление реакций при предъявлении знакомой, биологически незначимой обстановки и/или условий, у мышей линии BALB/c. С учетом факта, что процессы угашения труднее протекают при повышенном уровне тревожности [15], полученные данные свидетельствуют о способности фабомотизола оказывать облегчающее влияние на когнитивные функции в стрессовых условиях или у животных с генетически обусловленным «высокотревожным» фенотипом, и на способность улучшать привыкание к новым условиям, что является важным для лиц, тяжело переносящих какие-либо изменения, характеризующихся стереотипным и ограниченным поведением. нарушение привыкания, что может приводить к более сильным реакциям на стимулы окружающей среды.

Фабомотизол повышал эффективность патрулирования у мышей линии BALB/c в тесте «закрытый крестообразный лабиринт», что также свидетельствует об улучшении когнитивных функций при снижении уровня тревожности в условиях предъявления новой обстановки.

В тесте «обонятельной габитуации/дисгабитуации» реакция животных на обонятельные стимулы различной природы на фоне введения фабомотизола была во многих случаях сходной или более выраженной по сравнению с поведением мышей контрольной группы.

Таким образом, на фенотипической модели расстройств аутистического спектра – мышах линии BALB/c, показано, что фабомотизол в дозе 10 мг/кг улучшает социальное взаимодействие, уменьшает когнитивную ригидность, и, следовательно, стереотипию, оказывает облегчающее влияние на когнитивные функции в стрессовых условиях, ускоряет процесс привыкания к новой обстановке, в том числе за счет снижения тревожности. Однако использование фенотипической модели имеет ограничения, связанные с разной выраженностью

проявлений основной триады РАС, что подтверждается как полученными выше экспериментальными, так и литературными данными [57, 79, 333].

Вальпроевая кислота – противозипелитическое средство, прием которого при беременности увеличивает риск врожденных пороков развития, задержки когнитивных функций и РАС, объединенных в понятие «фетальный вальпроатный синдром». В настоящее время модель ФВС у грызунов хорошо валидирована и широко используется в патофизиологических и фармакологических исследованиях [86, 253, 305]. Воздействие ВПК на грызунов вызывает снижение социальных взаимодействий, усиление повторяющегося или стереотипного поведения, повышение тревожности, снижение исследовательской деятельности [62].

С целью получения выраженного симптомокомплекса РАС ФВС моделировался путем введения ВПК в дозе 400 мг/кг мышам линии BALB/c на 12,5 день гестации.

Так как дебют РАС и развитие заболевания приходятся на детский возраст с последующим прогрессированием и сохранением симптоматики у взрослых [128], является актуальным изучение возможностей фармакотерапии на разных этапах постнатального развития. В этой связи исследование поведенческих особенностей мышей линии BALB/c с ФВС проводилось на разных этапах их онтогенетического развития: раннем – перинатальном (5-14 дни постнатального развития), соответствующим периоду новорожденности у человека, раннем пубертатном (31-41 дни), соответствующим возрасту 13-16 лет человека и пубертатном и молодом взрослом периоде (47-62 дни), соответствующим 16-23 годам жизни человека [209].

На раннем этапе постнатального развития мышей линии BALB/c с ФВС проводили оценку физического развития, скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов, эмоционально-двигательного поведения, точной координации движений и социального поведения.

Пренатальное введение ВПК мышам BALB/c сопровождалось снижением массы тела на P6 и P7 при увеличении скорости её набора в дальнейшем. Фабомотизол нормализовал динамику прироста массы тела у мышей BALB/c с ФВС до контрольного уровня.

ФВС сопровождался отставанием сроков прозревания у самцов BALB/c при отсутствии выраженных нарушений у самок. При этом фабомотизол не оказал влияния на данный показатель.

Самцы с ФВС хуже координировали движения при переворотах тела со спины на конечности на поверхности и в воздухе, поворот на наклонной поверхности на 180° в тесте «отрицательный геотаксис», меньше времени удерживались на горизонтальной веревочке, что соответствует клиническим данным о нарушении развития моторики при РАС [54, 70, 156, 202,

211]. У самок аналогичные изменения наблюдались только в тестах «переворот в воздухе» и «веревочка».

Фабомотизол способствовал ускорению рефлекторного развития, развития моторики и вестибулярного аппарата, что выразилось в улучшении показателей в тестах «отрицательный геотаксис» и «переворот в воздухе» как у самцов, так и у самок с ФВС.

Как у самцов, так и у самок с ФВС было замедлено формирование ушного рефлекса и рефлекса вздрагивания на хлопок, что в обоих случаях корректировалось до уровня контрольных животных фабомотизолом.

В тесте «предпочтение материнского запаха» мышата групп, пренатально получавших ВПК, а затем с P7 по P14 – фабомотизол, проводили больше времени в зоне с опилками, взятыми из домашней клетки, в то время как у мышей групп «ВПК», отличий во времени, проведенном в разных по социальной значимости зонах (с чистыми опилками, опилками из домашней или чужой клетки), не было, что воспроизводит дисфункцию социального взаимодействия и распознавания социальных запахов при РАС [329].

Полученные данные предполагают задержку созревания и развития психомоторных функций, нарушенное функционирование сенсорных систем (сенсорные пороги) на ранней стадии жизни у мышей BALB/c с ФВС, что согласуется с наблюдаемой у детей с аутизмом длительной персистентностью некоторых рефлексов и отсроченным появлением других [275, 309].

Мыши, пренатально получавшие ВПК, демонстрировали ослабление социальных связей, проявлявшееся в отсутствии или снижении предпочтений запаха гнезда (материнского запаха) относительно незнакомого социального запаха по сравнению с контрольными мышами, что сопоставимо с предыдущими наблюдениями у крыс [286], и может быть связано с ранним дефицитом обонятельной дискриминации. Действительно, у новорожденных грызунов центральная нервная система незрелая, и ранние сенсорные взаимодействия основаны почти исключительно на хемосенсорных и термотактильных стимулах. Обоняние вовлечено в развитие жизненно важного социального поведения (ориентация, прижимание и сосание) у крысят. В частности, раннее обонятельное обучение в гнезде, по-видимому, имеет решающее значение для аспектов социального признания и может представлять собой основу социальных отношений [275].

Таким образом, фабомотизол (10 мг/кг, перорально с P7 по P14) улучшает показатели физического и неврологического развития, а также социальное взаимодействие в раннем постнатальном периоде у мышей линии BALB/c на модели ФВС.

В периоде начала полового созревания (P31-41) исследование влияния фабомотизола (10 мг/кг, перорально с P7 по P41) на поведение мышей BALB/c с ФВС проводили в тестах

«закрытый крестообразный лабиринт», «квадратное открытое поле», «перегородка», «автогруминг».

Тест «закрытый крестообразный лабиринт» позволяет оценить эффективность ориентации в пространстве в процессе исследовательского поведения животного, которая рассматривается как один из видов когнитивной деятельности, не связанной с собственно двигательной активностью и не требующей предварительного обучения, а также тревожность животных [22]. Самцы группы «ВПК», в отличие от самок, отличались повышенной тревожностью и стереотипностью поведения.

Фабомотизол не влиял на когнитивные функции у самцов мышей линии BALB/c с ФВС, но уменьшал тревожность, тогда как у самок был не эффективен. При этом у мышей BALB/c, без пренатальной патологии, фабомотизол уменьшал тревожность в условиях новой обстановки и увеличивал когнитивные функции, что было более характерно для самок.

Анализ поведения мышей линии BALB/c с ФВС в тесте «квадратное открытое поле» выявил увеличение длительности груминга, что свидетельствует о повышении стереотипии на фоне введения ВПК, однако хроническое введение фабомотизола приводило к уменьшению данного показателя, к тому же у самок отмечалось выраженное снижение двигательной активности, что с учетом уменьшения показателей груминга, было связано с анксиолитическим действием препарата.

Оценку влияния фабомотизола на социальное взаимодействие мышей BALB/c проводили в тесте «перегородка». У самцов мышей BALB/c с ФВС, получавших фабомотизол, отмечались выраженный интерес к социальному (знакомому) объекту, в отличие от мышей группы «ВПК», а также предпочтение незнакомого социального объекта знакомому, что выразилось как в увеличении длительности контакта с перегородкой, за которой располагали незнакомую мышь, так и в наличии самого высокого коэффициента предпочтения незнакомой мыши по сравнению с другими тестируемыми группами.

В тесте «автогруминг», позволяющем оценить стереотипное поведение животных в привычной нестрессорной обстановке, у мышей BALB/c, пренатально получавших ВПК, регистрировалось значимое увеличение продолжительности груминга. Фабомотизол предотвращал повышение продолжительности и числа эпизодов груминга у самцов мышей с ФВС, в отличие от самок, по сравнению с группой «ВПК».

Таким образом, фабомотизол уменьшал тревожность и стереотипные проявления, снижал гиперактивность, увеличивал реакцию на социальную новизну, что было выражено в разной степени для самцов и самок мышей линии BALB/c с ФВС в период их полового созревания (Р31-41).

В период с P47 по P62, характеризующийся наступлением половой зрелости и сопровождающийся ростом роли социальных взаимоотношений, а также полового и оборонительного поведения, использовались тесты, позволяющие оценить социальные аспекты, стереотипию, а также поведение, направленное на обеспечение терморегуляции, процессов размножения и оборонительное поведение в ответ на запах хищника.

В тесте «социальное взаимодействие» самцы мышей BALB/c с ФВС вели себя индифферентно к новым объектам, независимо от их социальной принадлежности, а также демонстрировали повышение тревожности, тогда как фабомотизол нормализовал их поведение. Самки мышей BALB/c с ФВС отличались более выраженным дефицитом социального взаимодействия, который уменьшался на фоне фабомотизола, что выражалось в стойком предпочтении социального объекта.

У самцов мышей линии BALB/c с ФВС в тесте «социальное узнавание» отмечалось снижение предпочтения к исследованию новизны, что выразилось в отсутствии различий в продолжительности контактов со знакомым и новым социальными объектами. Введение фабомотизола улучшало реакцию мышей BALB/c с ФВС на новизну до контрольных значений. У самок мышей BALB/c групп «Контроль» и «ВПК+Фабомотизол» характерная для линии социальная дискриминация была еще более выражена, чем у самцов – животные данных групп предпочтений к исследованию нового социального объекта не демонстрировали.

Таким образом, пренатальное введение ВПК самцам мышей BALB/c, усилило, характерные для линии проявления социальной дискриминации, а введение фабомотизола их корректировало, возвращая к контрольным показателям.

Мыши BALB/c с ФВС в тесте «построение гнезда» независимо от пола демонстрировали снижение поведенческой видовой активности, направленной на обеспечение терморегуляции и процессов размножения. При этом самцы и самки мышей BALB/c с ФВС, получавшие фабомотизол, строили идеальное гнездо (кратер со стенами), так же, как и животные контрольных групп.

Мыши линии BALB/c с патологией и без неё, в тесте «закапывание шариков» проявляли низкую активность, которая увеличивалась на фоне введения фабомотизола, что можно интерпретировать как положительное влияние препарата на снижение тревожности и нормализацию типично-видового поведения животных.

В тесте «Y-образный лабиринт с аверсивным запахом» поведение самцов мышей BALB/c с ФВС не отличалось от поведения животных без патологии, в то время как самки с ФВС больше времени проводили около источника аверсивного запаха. Введение фабомотизола как самцам, так и самкам мышей с ФВС вызывало уменьшение длительности контакта с

источником аверсивного запаха, т.е. улучшало показатели видового-оборонительного поведения животных.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что у мышей линии BALB/c с ФВС ярким проявлением РАС является снижение социального взаимодействия, особенно выраженное у самок, снижение предпочтения к исследованию новизны, наблюдаемое у самцов, нарушение типичных характеристик видового поведения, таких как гнездование, проявлявшееся в снижении числа полностью построенных гнезд у самцов и самок, и в снижении оборонительного поведения при предъявлении запаха хищника, более характерное для поведения самок.

Хроническое введение фабомотизола (10 мг/кг, ежедневно, внутрь), с раннего постнатального периода (P7) до периода половой зрелости (P62) нивелировало большинство обусловленных ФВС нарушений социального поведения, что выразилось как в улучшении регистрируемых показателей (более выражено у самок), так и в отсутствии отличий от показателей группы «Контроль» в тесте «Социальное взаимодействие», повышении реакции самцов мышей BALB/c с ФВС на новизну до контрольных значений, улучшении видовой активности, направленной на обеспечение терморегуляции и процессов размножения – строительство идеального гнезда представителями обоих полов и в повышении реакции избегания на предъявление запаха хищника, как у самцов, так и у самок.

Показано, что у пациентов с РАС нарушена возрастная динамика моноаминергических нейромедиаторов: серотонина, дофамина и норадреналина. Нарушения совпадают с критическими периодами формирования и созревания различных структур головного мозга [12, 164, 304]. Причем как высокие, так и низкие концентрации моноаминов в периоды синаптогенеза и формирования нейронных связей могут способствовать развитию таких психических расстройств, как тревожные расстройства, наркомания и аутизм [135].

Оценка нейрохимического профиля в гипоталамусе 15-и дневных самцов мышей BALB/c, пренатально получавших ВПК, различий по содержанию моноаминов и их метаболитов по сравнению с показателями контрольной группы не выявила, однако на P64 отмечался значимый рост концентраций NA, DA и DOPAC, 5-HT, 5-HIAA и 5-HIAA/5-HT. В гипоталамусе взрослых самцов мышей BALB/c с ФВС (P64), получавших фабомотизол, выявлена нормализация нейрохимического профиля, нарушенного пренатальным введением ВПК: содержание NA, 5-HT и его метаболитов было значимо меньше соответствующих показателей группы «ВПК» на P64 и сравнимо с контрольными значениями.

Выраженные изменения уровня моноаминергической нейротрансмиссии обнаружены в стриатуме самцов мышей с ФВС на 15 день их постнатального развития, выразившиеся в снижении в 1,5 раза уровня NA, в 1,6 раза – DA, в 2,1 раза – DOPAC, в 2,2 раза – HVA и в 1,3

раза – HVA/DA по сравнению с контрольными значениями. Данные отличия в метаболической активности, возможно, связаны со снижением активности тирозингидроксилазы – фермента, лимитирующего скорость синтеза DA, под воздействием ВПК. Одновременно, в стриатуме мышей группы «ВПК» на P15 отмечалось снижение содержания 5-НТ и его метаболита – 5-НИАА.

На 64 день постнатального развития у самцов мышей BALB/c с ФВС в стриатуме мозга отмечался рост содержания NA, DOPAC, 5-НТ, а также 5-НИАА и 5-НИАА/5-НТ.

Недельное введение фабомотизола самцам мышей BALB/c с ФВС с (P7 до P15), вызывало повышение содержания NA и 5-НТ в стриатуме относительно группы «ВПК», сравнимое с контрольными значениями.

На фоне хронического введения фабомотизола (с P7 по P64) самцам мышей BALB/c с ФВС ясной картины нейрохимических изменений в стриатуме не обнаружено: отмечалось снижение основных показателей дофаминергической и частично серотонинергической нейротрансмиссии, в основном имевшем различия с соответствующими показателями мышей группы «ВПК» на P64.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разнонаправленности или отставании процессов связанных с оборотом моноаминов у мышей с экспериментальным РАС: в контрольной группе мышей BALB/c высокие уровни моноаминов и их метаболитов в перинатальном периоде, снижаются, или, в случае низкого их содержания, умеренно возрастают к 64 дню постнатального развития, а в группе мышей пренатально получавших ВПК изначально низкий уровень регистрируемых моноаминов и их метаболитов значительно возрастает, превышая контрольные значения.

Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь с 7 дня жизни) нормализует нейрохимический профиль уровня моноаминов у мышей линии BALB/c с ФВС: на 15 день постнатального развития препарат вызывает повышение уровней норадреналина и серотонина, а на 64 день – вызывает снижение повышенного содержания норадреналина, серотонина и его метаболитов до контрольных значений.

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что фабомотизол в дозе 10 мг/кг способствует снижению выраженности основного симптомокомплекса РАС – нарушение социального взаимодействия, стереотипия, ограниченность и рутинность поведения, а также уменьшает тревожность, улучшает адаптацию, способствует снижению когнитивного дефицита в стрессовых условиях, что продемонстрировано в условиях двух моделей экспериментального РАС: фенотипической модели и модели фетального вальпроатного синдрома. Изучение влияния фабомотизола на разных этапах онтогенетического развития мышей BALB /c с фетальным

вальпроатным синдромом показала возможность применения препарата и его эффективность для разных возрастных групп.

Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют заключить, что фабомотизол по механизму действия и спектру фармакологических эффектов является перспективным препаратом для фармакотерапии РАС.

ВЫВОДЫ

1. Мыши линии BALB/c являются идиопатической моделью расстройств аутистического спектра, пригодной для изучения патогенеза заболевания и для оценки возможных средств коррекции РАС, 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 – мышах линии BALB/c, показано, что 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 (31-41 дни постнатального развития), отличаются повышенной тревожностью и стереотипным поведением. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь ежедневно с 7 по 41 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. Для мышей линии BALB/c с ФВС характерно 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.
7. Фабомотизол (10 мг/кг, внутрь с 7 дня жизни) на модели ФВС к 64 дню постнатального развития нормализует показатели дофаминергической и серотонинергической нейротрансмиссии у мышей линии BALB/c.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные в ходе диссертационного исследования данные свидетельствуют о целесообразности расширенного изучения селективного небензодиазепинового анксиолитика фабомотизола (5-этоксифен-2-[2-(морфолин-1-ил)этил]-1-бензимидазол дигидрохлорида) в качестве потенциального лекарственного мультитаргетного препарата для лечения расстройств аутистического спектра.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ЗМТ – 3-метилтирамин
- 5-HIAA – 5-окси(гидрокси)индолуксусная кислота
- 5-НТ – серотонин
- Ach – ацетилхолин
- CARS – шкала оценки детского аутизма
- CGI-I – шкала общего клинического впечатления
- CNTNAP2 – ген контактин-ассоциированно-подобного белка 2
- CPRS – шкала оценки детской психопатологии
- CY-BOCS – детская обсессивно-компульсивная шкала Йеля-Брауна
- DA – дофамин
- DAT – транспортер дофамина
- DOPAC – 3,4-диокси(гидрокси)фенилуксусная кислота
- GRP75 – связанный с глюкозой белок 75
- HVA – гомованилиновая кислота
- mCU – митохондриальные кальциевые унипортерные каналы
- NA – норадреналин
- nAChR – никотиновые рецепторы ацетилхолина
- OXTR – ген окситоцинового рецептора
- PMCA – насос кальциевой АТФазы плазматической мембраны
- PolyI:C – полиинозиновая полицитидиловая кислота
- RyRs – рецепторы рианодина
- SERCA – насос эндоплазматического ретикулума кальциевой АТФазы
- SERT – переносчик серотонина
- SRS – шкала социальной отзывчивости
- TSC – туберозный склероз
- VDAC – потенциал-зависимые анионные каналы
- АФК – активные формы кислорода
- ВПК – вальпроевая кислота
- ГАМК – гамма-аминомасляная кислота
- ИФ3 – инозитол-3-фосфат
- МАМ – мембраны, связанные с митохондриями
- МИА – материнская иммунная активация
- МНН – международное непатентованное наименование
- ПНР – постнатальное развитие

РАС – расстройства аутистического спектра

СДВГ – синдром дефицита внимания и гиперактивности

ФВС – фетальный вальпроатный синдром

ЭР – эндоплазматический ретикулум

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, Е. В. Взаимодействие Фабомотизола с Сигма-1 рецепторами головного мозга мышей / Е. В. Абрамова, М. В. Воронин, С. Б. Середенин // Химико-фармацевтический журнал. – 2015. – Т. 49, №1. – С. 9-11.
2. Александровский, Ю.А. Психиатрия. Национальное руководство / Ю.А. Александровский, Н.Г. Незнанов. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2020. – 1008 с.
3. 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.
4. Беккер, Р. А. Афобазол (фабомотизол): анксиолитик, и не только (израильско-российский взгляд на проблему) / Р. А. Беккер, Ю. В. Быков // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2017. – Т. 19, №4. – С. 12-21.
5. Богдан, Н. Г. Влияние афобазола на психофизиологические показатели здоровых добровольцев / Н. Г. Богдан, Н. В. Колотилинская, С. А. Надоров, М. А. Яркова, Б. А. Бадыштов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74, №8. – С. 8-12.
6. Бокша, И. С. Биохимические аномалии при аутизме / И. С. Бокша // Аутизм и нарушения развития. – 2005. – Т. 3, №2. – С. 1-24.
7. Вахитова, Ю. В. Влияние фабомотизола на экспрессию генов в головном мозге крыс MR при стрессовом воздействии в тесте “открытое поле”/ Ю. В. Вахитова, У. Ш. Кузьмина, М. В. Воронин, Л. Ф. Зайнуллина, С. Б. Середенин // Вестник РАМН. – 2019. – Т. 488, №3. – С. 329-332.
8. Воробьёва, О. В. Нейрофармакологический потенциал Сигма1-рецепторов – новые терапевтические возможности / О. В. Воробьёва // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 51-56.
9. Воронин, М. В. Молекулярные механизмы нейротропного действия афобазола / М. В. Воронин, И. А. Кадников, Е. В. Абрамова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2021. – Т. 84, №2. – С. 15-22.
10. Воронин, М. В. Цитопротекторные эффекты, опосредованные sigma-1 и МТЗ рецепторами / М. В. Воронин, Е. В. Абрамова, И. А. Кадников, С. Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 5. – С. 45-46.
11. Горбатова, Д. М. Пренатальные эффекты продуктов сгорания торфа и их коррекция афобазолом у потомства крыс / Д. М. Горбатова, Е. П. Немова, А. С. Соломина, А. Д. Дурнев, С. Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, № 11. – С. 604-608.

12. Горина, А. С. Возрастная динамика моноаминоэргических нейротрансмиттеров в спинномозговой жидкости при аутизме, синдроме дефицита внимания и гиперактивности и их коморбидности / А. С. Горина, S. Goetze, Л. С. Колесниченко // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2013. – Т. 117, №2. – С. 34-37.
13. Григоренко, Е. Л. Расстройства аутистического спектра. Вводный курс. Учебное пособие для студентов / Е. Л. Григоренко. – М. Практика. – 2018. – 280 с.
14. Кадников, И. А. Метаболит афобазола М-11 ингибирует хинон-редуктазу-2 / И. А. Кадников, М. В. Воронин, С. Б. Середенин // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2018. – Т. 3. – С. 27-30.
15. Калуев, А. В. Нейрогенетика и нейробиология памяти и тревожности / А. В. Калуев // Нейронауки. – 2006. – Т. 8, № 6. – С. 19-28.
16. 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.
17. 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.
18. Капица, И. Г. Влияние трифтазина на поведение молодых взрослых крыс с фетальным вальпроатным синдромом / И. Г. Капица, Е. А. Иванова, Т. А. Воронина, А. П. Калинина // Патогенез. – 2018. – Т. 16, №2. – С. 48-55.
19. Капица, И. Г. Влияние трифтазина на проявления расстройств аутистического спектра у крыс с фетальным вальпроатным синдромом / И. Г. Капица, Е. А. Иванова, Т. А. Воронина, Г. В. Процун // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2017 –Т. 3. – С. 34-38.
20. Капица, И. Г. Коррекция афобазолом тревоги при моделировании аутизма / И. Г. Капица, Е. А. Иванова, Т. А. Воронина, А. П. Калинина, С. Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. – Т. 82, №10. – С. 3-7.
21. Каркищенко, В. Н. Исследователи предпочитают мышей BALB/c / В. Н. Каркищенко, Е. Ф. Шмидт, Е. В. Брайцева // Биомедицина. – 2007. – Т. 1, №1. – С. 57-70.
22. Ковалёв, Г. И. Сравнение поведения мышей в тестах открытого поля, закрытого и приподнятого крестообразных лабиринтов с помощью факторного анализа / Г. И. Ковалёв, Е. В. Васильева, Р. М. Салимов // Журнал высшей нервной деятельности. – 2019. – Т. 69, №1. – С. 123-130.

23. Кондрахин, Е. А. Сравнение поведенческих и нейрорецепторных эффектов пантогама и бемитила при одно- и многократном введении мышам C57BL/6 и BALB/c / Е. А. Кондрахин, Р. М. Салимов, Г. Г. Незнамов, Г. И. Ковалев // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2015. – №1. – С. 44-51.
24. Котеров, А. Н. Соотношение возрастов основных лабораторных животных (мышей, крыс, хомячков и собак) и человека: актуальность для проблемы возрастной радиочувствительности и анализ опубликованных данных / А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова, Э. С. Зубенкова, А. А. Вайнсон, А. П. Бирюков // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2018. – Т. 63, №1. – С. 5–27.
25. Кравченко, Е. В. Влияние ноопепта на показатели угашения (габитуации) у нелинейных мышей и у мышей линии BALB/c / Е. В. Кравченко, Л. В. Максимова, Р. У. Островская, Т. А. Гудашева // Вестник фармации. – 2007. – Т. 37, №3. – С. 81-88.
26. 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.
27. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А. Н. Миронов. – Тула: Гриф и К. – 2012. – 944 с.
28. Михрина, А. Л. Роль агути-подобного пептида в регуляции дофаминергических и норадренергических нейронов мозга: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01 / Михрина Анастасия Леонидовна. – СПб., 2015. – 24 с.
29. Незнамов, Г. Г. Новый анксиолитик афобазол: результаты сравнительного клинического исследования с диазепамом при генерализованном тревожном расстройстве / Г. Г. Незнамов, С. А. Сюняков, Д. В. Чумаков, Е. С. Телешова, И. А. Давыдова, С. А. Гришин, Л. Э. Маметова, Т. С. Сюняков // Психиатрия и психофармакотерапия (экстравыпуск). – 2006. – С.17-23.
30. Незнамов, Г. Г. Субъективная оценка больными действия анксиолитиков: зависимость от структуры тревожных расстройств/ Г. Г. Незнамов, М. В. Метлина, Н. И. Богданова, Н. А. Кузнецов, С. А. Сюняков // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2017. – Т. 19, №3. – С. 10-18.
31. Никольская, О. С. Особенности психического развития детей с аутизмом / О. С. Никольская, М. Ю. Веденина // Альманах Института коррекционной педагогики. 2014. – №18. URL: <https://alldef.ru/ru/articles/almanah-18/osobennosti-psihicheskogo-razvitija-detej-s-146>

32. Общественная организация «Российское общество психиатров». Расстройства аутистического спектра в детском возрасте: диагностика, терапия, профилактика, реабилитация. Клинические рекомендации / Общественная организация «Российское общество психиатров». – М.: Министерство здравоохранения РФ, 2020. – 125 с.
33. Середенин, С. Б. Афобазол снижает двигательные расстройства, вызванные галоперидолом / С. Б. Середенин, Т. А. Гарибова, А. Л. Кузнецова, М. В. Воронин, М. А. Яркова, Т. А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72, №1. – С. 15-18.
34. Середенин, С. Б. Нейрорецепторные механизмы действия афобазола / С. Б. Середенин, М. В. Воронин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72, № 1. – С. 3-11.
35. Середенин, С. Б. Сигма-1 рецепторы – новая мишень фармакологической регуляции / С. Б. Середенин, М. В. Воронин, Е. В. Абрамова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80, №9. – С. 9-19.
36. Середенин, С. Б. Средство для коррекции расстройств аутистического спектра / С. Б. Середенин, И. Г. Капица, Е. А. Иванова, Т. А. Воронина // Патент РФ на изобретение №RU 2666598 C1. – 11.09.2018.
37. Силкина, И. В. ГАМК-ергический механизм цереброваскулярного и нейропротекторного эффектов афобазола и пикамилаона / И. В. Силкина, Т. С. Ганьшина, С. Б. Середенин, Р. С. Мирзоян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68, №1. – С. 20-24.
38. Симашкова, Н. В. Расстройства аутистического спектра у детей. Научно-практическое руководство / Н. В. Симашкова. – М.: Авторская академия. – 2013. – 264 с.
39. Смулевич, А. Б. Психофармакотерапия тревожных расстройств пограничного уровня (сравнительное исследование анксиолитического эффекта Афобазола и оксазепам у больных с расстройствами адаптации и генерализованным тревожным расстройством / А. Б. Смулевич, А. В. Андрющенко, Д. В. Романов // Русский Медицинский Журнал. – 2006. – Т. 14, №9. – С. 3-7.
40. Сюняков, Т. С. Оценка терапевтической эффективности и безопасности селективного анксиолитика афобазола при генерализованном тревожном расстройстве и расстройствах адаптации: результаты многоцентрового рандомизированного сравнительного с диазепамом исследования / Т. С. Сюняков, Г. Г. Незнамов // Терапевтический архив (архив до 2018 г.). – 2016. – Т. 88, №8. – С. 73-86.
41. Толмачева, Е. А. Справочник Видаль 2021 / Е. А. Толмачева. – М.: Видаль Рус. – 2021. – 1120 с.

42. Филиппова, Н. В. Нейрохимические аспекты этиопатогенеза расстройств аутистического спектра / Н. В. Филиппова, Ю. Б. Барыльник // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – Т. 123, № 8. – С. 11-15.
43. Чижова, Г. В. Принципы терапии психоэмоциональных проявлений климактерического синдрома в период менопаузы / Г. В. Чижова, Т. П. Цветкова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2011. – Т. 10, №3. – С. 50-54.
44. Эль-Ансари, А. ГАМК, дефициты нейротрансммитера глутамата при аутизме и их нейтрализация как новая гипотеза эффективной стратегии лечения / А. Эль-Ансари // Аутизм и нарушения развития. – 2020. – Т. 18. № 3. – С. 46-63.
45. Яркова, М. А. Анализ связывающей способности бензодиазепинового участка ГАМК-А рецептора у мышей C57Bl/6 и Balb/c при введении анксиолитиков / М. А. Яркова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74, № 8. – С. 3-7.
46. Яркова, М. А. Временные характеристики стрессиндуцированного падения бензодиазепиновой рецепции у мышей линий C57BL/6 и BALB/c / М. А. Яркова, С. Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, № 6. – С. 733-735.
47. Ястребов, Д. В. Применение препарата Афобазол при нарушениях сна у больных с тревожными расстройствами / Д. В. Ястребов, О. И. Михайлова, Е. А. Костычева // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2013. – Т. 15, №5. – С. 32-35.
48. Aaron, E. Whole Blood Serotonin Levels and Platelet 5-HT_{2A} Binding in Autism Spectrum Disorder / E. Aaron, A. Montgomery, X. Ren, S. Guter, G. Anderson, A. M. D. Carneiro, S. Jacob, M. Mosconi, G. N. Pandey, E. Cook, J. Veenstra-VanderWeele // Journal of Autism and Developmental Disorders. – 2019. – V. 49, №6. – P. 2417-2425.
49. Abdulamir, H. A. Serotonin and serotonin transporter levels in autistic children / H. A. Abdulamir, O. F. Abdul-Rasheed, E. A. Abdulghani // Saudi Medical Journal. – 2018. – V. 39, №5. – P. 487-494.
50. Adam, A. Gestational Exposure to Sodium Valproate Disrupts Fasciculation of the Mesotelencephalic Dopaminergic Tract, With a Selective Reduction of Dopaminergic Output From the Ventral Tegmental Area / A. Adam, R. Kemecsei, V. Company, R. Murcia-Ramon, I. Juarez, L. I. Gerecsei, G. Zachar, D. Echevarria, E. Puellas, S. Martinez, A. Csillag // Frontiers in Neuroanatomy. – 2020. – V. 14. – P. 29.
51. Al-Otaish, H. Relationship between absolute and relative ratios of glutamate, glutamine and GABA and severity of autism spectrum disorder / H. Al-Otaish, L. Al-Ayadhi, G. Bjørklund, S. Chirumbolo, M. A. Urbina, A. El-Ansary // Metabolic Brain Disease. – 2018. – V. 33, №3. – P. 843-854.

52. Aman, M. G. Safety and Efficacy of Memantine in Children with Autism: Randomized, Placebo-Controlled Study and Open-Label Extension / M. G. Aman, R. L. Findling, A. Y. Hardan, R. L. Hendren, R. D. Melmed, O. Kehinde-Nelson, H. A. Hsu, J. M. Trugman, R. H. Palmer, S. M. Graham, A. T. Gage, J. L. Perhach, E. Katz // *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*. – 2017. – V. 27, №5. – P. 403-412.
53. Andrade, C. Valproate in Pregnancy: Recent Research and Regulatory Responses / C. Andrade // *Journal of Clinical Psychiatry*. – 2018. – V. 79, №3. – P. 18f12351.
54. Arabameri, E. Early developmental delay in children with autism: a study from a developing country / E. Arabameri, M. S. Sotoodeh // *Infant Behavior and Development*. – 2015. – V. 39. – P. 118–123.
55. Arakawa, H. Ethological and multi-behavioral analysis of learning and memory performance in laboratory rodent models / H. Arakawa, Y. Iguchi // *Neuroscience Research*. – 2018. – V. 135. – P. 1-12.
56. Arakawa, H. Involvement of serotonin and oxytocin in neural mechanism regulating amicable social signal in male mice: Implication for impaired recognition of amicable cues in BALB/c strain / H. Arakawa // *Behavioral Neuroscience*. – 2017. – V. 131, №2. – P. 176-191.
57. Arakawa, H. Somatosensorimotor and Odor Modification, Along with Serotonergic Processes Underlying the Social Deficits in BTBR T+ Itpr3tf/J and BALB/cJ Mouse Models of Autism / H. Arakawa // *Neuroscience*. – 2020. – V. 445. – P. 144-162.
58. Arya, A. Autism: An early-onset neurodevelopmental disorder / A. Arya, G. Sindhwani // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. – 2016. – V. 7. – P. 3567.
59. Avale, M. E. Prefrontal nicotinic receptors control novel social interaction between mice / M. E. Avale, J. Chabout, S. Pons, P. Serreau, F. De Chaumont, J.C. Olivo-Marin, J. P. Bourgeois, U. Maskos, J. P. Changeux, S. Granon // *FASEB Journal*. – 2011. – V. 25, №7. – P. 2145-2155.
60. Avraham, Y. Beta-carotene as a novel therapy for the treatment of “Autistic like behavior” in animal models of Autism / Y. Avraham, E. M. Berry, M. Donskoy, W. A. Ahmad, L. Vorobiev, A. Albeck, D. Mankuta // *Behavioural Brain Research*. – 2019. – V. 364. – P. 469-479.
61. Bagni, C. Fragile X syndrome: causes, diagnosis, mechanisms, and therapeutics / C. Bagni, F. Tassone, G. Neri, R. Hagerman // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2012. – V. 122, №12. – P. 4314-4322.
62. Bambini-Junior, V. Animal model of autism induced by prenatal exposure to valproate: behavioral changes and liver parameters / V. Bambini-Junior, L. Rodrigues, G. A. Behr, J. C. Moreira, R. Riesgo, C. Gottfried // *Brain Research*. – 2011. – V. 1408. – P. 8-16.

63. Bambini-Junior, V. Resveratrol prevents social deficits in animal model of autism induced by valproic acid. / V. Bambini-Junior, G. Zanatta, G. Della Flora Nunes, G. Mueller de Melo, M. Michels, M. Fontes-Dutra, V. Nogueira Freire, R. Riesgo, C. Gottfried // *Neuroscience Letters*. – 2014. – V. 583. – P. 176-181.
64. Bannai, H. Bidirectional control of synaptic GABAAR clustering by glutamate and calcium / H. Bannai, F. Niwa, M. W. Sherwood, A. N. Shrivastava, M. Arizono, A. Miyamoto, K. Sugiura, S. Lévi, A. Triller, K. Mikoshiba // *Cell Reports*. – 2015. – V. 13. – P. 2768-2780.
65. Baron-Cohen S. Prevalence of autism-spectrum conditions: UK school-based population study / S. Baron-Cohen, F. J. Scott, C. Allison, J. Williams, P. Bolton, F. E. Matthews, C. Brayne // *British Journal of Psychiatry*. – 2009. – V. 194. – P. 500–509.
66. Berridge, M. J. The inositol trisphosphate/calcium signaling pathway in health and disease / M. J. Berridge // *Physiological Reviews*. – 2016. – V. 96. – P. 1261-1296.
67. Berridge, M. J. The versatility and universality of calcium signaling / M. J. Berridge, P. Lipp, M. D. Bootman // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2000. – V. 1. – P. 11-21.
68. Berry-Kravis, E. Arbaclofen in fragile X syndrome: results of phase 3 trials / E. Berry-Kravis, R. Hagerman, J. Visootsak, D. Budimirovic, W. E. Kaufmann, M. Cherubini, P. Zarevics, K. Walton-Bowen, P. Wang, M. F. Bear, R. L. Carpenter // *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. – 2017. – V. 9. – P. 3.
69. Bezprozvanny, I. Calcium signaling and neurodegenerative diseases / I. Bezprozvanny // *Trends in Molecular Medicine*. – 2009. – V. 15. – P. 89-100.
70. Bhat, A. N. Relationship between early motor delay and later communication delay in infants at risk for autism / A. N. Bhat, J. C. Galloway, R. J. Landa // *Infant Behavior and Development*. – 2012. – V. 35, №4. – P. 838-846.
71. Binkerd, P. E. Evaluation of valproic acid (VPA) developmental toxicity and pharmacokinetics in Sprague-Dawley rats / P. E. Binkerd, J. M. Rowland, H. Nau, A. G. Hendrickx // *Fundamental and Applied Toxicology*. – 1988. – V. 11. – P. 485-493.
72. Blanchart, A. Synaptogenesis in the mouse olfactory bulb during glomerulus development / A. Blanchart, M. Romaguera, J. M. García-Verdugo, J. A. de Carlos, L. López-Mascaraque // *The European journal of neuroscience*. – 2008. – V. 27, №11. – P. 2838-2846.
73. Boer, K. Clinicopathological and immunohistochemical findings in an autopsy case of tuberous sclerosis complex / K. Boer, D. Troost, F. Jansen, M. Nellist, A. M. van den Ouweland, J. J. Geurts, W. G. Spliet, P. Crino, E. Aronica // *Neuropathology*. – 2008. – V. 28, №6. – P. 577-590.
74. Bossu, J-L. The valproate model of autism / J-L. Bossu, S. Roux // *Medecine Sciences (Paris)*. – 2019. – V. 35, №3. – P. 236-243.

75. Braam, W. Low maternal melatonin level increases autism spectrum disorder risk in children / W. Braam, F. Ehrhart, A. P. H. M. Maas, M. G. Smits, L. Curfs // *Research in Developmental Disabilities*. – 2018. – V. 82. – P. 79-89.
76. Brady, S. *Basic Neurochemistry Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology*. 8th Edition / S. Brady, G. Siegel, R. Wayne Albers, D. Price. – Oxford. – 2012. – 1092 p.
77. Braunschweig, D. Maternal autoantibodies in autism / D. Braunschweig, J. Van de Water // *Archives of Neurology*. – 2012. – V. 69, №6. – P. 693-699.
78. British Psychological Society. NICE Clinical Guidelines. Autism spectrum disorder in adults: diagnosis and management / British Psychological Society – Leicester: National Collaborating Centre for Mental Health (UK). – 2012 – 44 p.
79. Brodtkin, E. S. BALB/c mice: low sociability and other phenotypes that may be relevant to autism / E. S. Brodtkin // *Behavioural Brain Research*. – 2007. – V. 176, №1. – P. 53-65.
80. Bruno, J. L. Brain circuitry, behavior, and cognition: A randomized placebo-controlled trial of donepezil in fragile X syndrome / J. L. Bruno, S. H. Hosseini, A. A. Lightbody, M. K. Manchanda, A. L. Reiss // *Journal of Psychopharmacology*. – 2019. – V. 33, №8. – P. 975-985.
81. Brust, P. Molecular imaging of $\sigma 1$ receptors in vivo: current status and perspectives / P. Brust, W. Deuther-Conrad, K. Lehmkuhl, H. Jia, B. Wünsch // *Current Medicinal Chemistry*. – 2014. – V. 21, №1. – P. 35-69.
82. Burket, J. A. Characterization of gait and olfactory behaviors in the BALB/c mouse model of autism spectrum disorders / J. A. Burket, C. M. Young, T. L. Green, A. D. Benson, S. I. Deutsch // *Brain Research Bulletin*. – 2016. – V. 122. – P. 29-34.
83. Campbell, M. Neuroleptic-related dyskinesias in autistic children: a prospective, longitudinal study / M. Campbell, J. L. Armenteros, R. P. Malone, P. B. Adams, Z. W. Eisenberg, J. E. Overall // *The Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry's*. – 1997. – V. 36, №6. – P. 835-843.
84. Carlsson, M. L. Hypothesis: is infantile autism a hypoglutamatergic disorder? Relevance of glutamate - serotonin interactions for pharmacotherapy / M. L. Carlsson // *Journal of Neural Transmission (Vienna)*. – 1998. – V. 105, №4-5. – P. 525-535.
85. Chadman, K. K. Minimal aberrant behavioral phenotypes of neuroligin-3 R451C knockin mice / K. K. Chadman, S. Gong, M. L. S. Scattoni, S. E. Boltuck, S. U. Gandhi, N. Heintz, J. N. Crawley // *Autism Research*. – 2008. – V. 1. – P. 147-158.
86. Chaliha, D. A Systematic Review of the Valproic-Acid-Induced Rodent Model of Autism / D. Chaliha, M. Albrecht, M. Vaccarezza, R. Takechi, V. Lam, H. Al-Salami, J. Mamo // *Developmental Neuroscience*. – 2020. – V. 42. – P. 12–48.

87. Chang, Y. C. Behavioral Phenotyping for Autism Spectrum Disorders in Mice / Y. C. Chang, T. B. Cole, L. G. Costa // *Current Protocols in Toxicology*. – 2017 – 72: – 11.22.1-11.22.21.
88. Cheaha, D. Characterization of in utero valproic acid mouse model of autism by local field potential in the hippocampus and the olfactory bulb / D. Cheaha, S. Bumrungsri, S. Chatpun, E. Kumarnsit // *Neuroscience Research*. – 2015. – V. 98. – P. 28-34.
89. Chen, R. Leveraging blood serotonin as an endophenotype to identify de novo and rare variants involved in autism / R. Chen, L. K. Davis, S. Guter, Q. Wei, S. Jacob, M. H. Potter, N. J. Cox, E. H. Cook, J. S. Sutcliffe, B. Li // *Molecular Autism*. – 2017. – V. 8. – P. 14.
90. Chevallier, C. The social motivation theory of autism / C. Chevallier, G. Kohls, V. Troiani, E. S. Brodtkin, R. T. Schultz // *Trends in Cognitive Sciences*. – 2012. – V. 16, №4. – P. 231-239.
91. Choi, G. B. The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring / G. B. Choi, Y. S. Yim, H. Wong, S. Kim, H. Kim, S. V. Kim, C. A. Hoeffler, D. R. Littman, J. R. Huh // *Science*. – 2016. – V. 351, №6276. – P. 933–939.
92. Christensen, J. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism / J. Christensen, T. K. Gronborg, M. J. Sorensen, D. Schendel, E. T. Parner, L. H. Pedersen, M. Vestergaard // *Journal of the American Medical Association*. – 2013. – V. 309. – P. 1696-1703.
93. Chuffa, L. G. A. Melatonin Promotes Uterine and Placental Health: Potential Molecular Mechanisms / L. G. A. Chuffa, L. A. Lupi, M. S. Cuciolo, H. S. Silveira, R. J. Reiter, F. R. F. Seiva // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – V. 21, №1. – P. 300.
94. Chugani, D. C. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children / D. C. Chugani, O. Muzik, M. Behen, R. Rothermel, J. J. Janisse, J. Lee, H. T. Chugani // *Annals of Neurology*. – 1999. – V. 45, №3. – P. 287-295.
95. Chugani, D. C. Efficacy of Low-Dose Bupirone for Restricted and Repetitive Behavior in Young Children with Autism Spectrum Disorder: A Randomized Trial / D. C. Chugani, H. T. Chugani, M. Wiznitzer, S. Parikh, P. A. Evans, R. L. Hansen, R. Nass, J. J. Janisse, P. Dixon-Thomas, M. Behen, R. Rothermel, J. S. Parker, A. Kumar, O. Muzik, D. J. Edwards, D. Hirtz // *Journal of Pediatrics*. – 2016. – V. 170. – P. 45-53.e534.
96. Chugani, D. C. Role of altered brain serotonin mechanisms in autism / D. C. Chugani // *Molecular Psychiatry*. – 2002. – V. 7 (Suppl. 2). – P. S16–S17.
97. Chung, C. Early Correction of N-Methyl-D-Aspartate Receptor Function Improves Autistic-like Social Behaviors in Adult Shank2^{-/-} Mice / C. Chung, S. Ha, H. Kang, J. Lee, S.M. Um, H. Yan, Y. E. Yoo, T. Yoo, H. Jung, D. Lee, E. Lee, S. Lee, J. Kim, R. Kim, Y. Kwon, W. Kim, H. Kim, L. Duffney, D. Kim, W. Mah, H. Won, S. Mo, J. Y. Kim, C. S. Lim, B. K. Kaang, T. M.

Boeckers, Y. Chung, H. Kim, Y. H. Jiang, E. Kim // *Biological Psychiatry*. – 2019. – V. 85, №7. – P. 534-543.

98. Cobos, E. J. Pharmacology and therapeutic potential of sigma(1) receptor ligands / E. J. Cobos, J. M. Entrena, F. R. Nieto, C. M. Cendán, E. Del Pozo // *Current Neuropharmacology*. – 2008. – V. 6. – P. 344-366.

99. Copeland, D. Association between mitochondria and the endoplasmic reticulum in cells of the pseudobranch gland of a teleost / D. Copeland, E. An // *Journal of Cell Biology*. – 1959. – V. 5. – P. 393-396.

100. Courchesne, E. Brain growth across the life span in autism: age-specific changes in anatomical pathology / E. Courchesne, K. Campbell, S. Solso // *Brain Research*. – 2011. – V. 1380 – P. 138-145.

101. Crawley, J. N. Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. / J. N. Crawley // *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*. – 2004. – V. 10, №4. – P. 248-258.

102. Csordás, G. Endoplasmic reticular–mitochondrial contactology: structure and signaling functions / G. Csordás, D. Weaver, G. Hajnóczky // *Trends in Cell Biology*. – 2018. – V. 28, №7. – P. 523-540.

103. Deacon, R. Assessing burrowing, nest construction, and hoarding in mice / R. Deacon // *Journal of Visualized Experiments*. – 2012. – V. 59. – P. e2607.

104. Delprat, B. At the Crossing of ER Stress and MAMs: A Key Role of Sigma-1 Receptor? / B. Delprat, L. Crouzier, T. P. Su, T. Maurice // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2020. – V. 1131. – P. 699-718.

105. DeMayo, M. M. Age-related parietal GABA alterations in children with autism spectrum disorder / M. M. DeMayo, A. D. Harris, Y. J. C. Song, I. Pokorski, R. Thapa, S. Patel, Z. Ambarchi, E. E. Thomas, I. B. Hickie, A. J. Guastella // *Autism Research*. – 2021. – V. 14, №5. – P. 859-872.

106. Di Leva, F. The plasma membrane Ca²⁺ ATPase of animal cells: structure, function and regulation / F. Di Leva, T. Domi, L. Fedrizzi, D. Lim, E. Carafoli // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2008. – V. 476. – P. 65-74.

107. Di, J. The role of GABAergic neural circuits in the pathogenesis of autism spectrum disorder / J. Di, J. Li, B. O'Hara, I. Alberts, L. Xiong, J. Li, X. Li // *International Journal of Developmental Neuroscience*. – 2020. – V. 80, №2. – P. 73-85.

108. DiCarlo, G. E. Autism-linked dopamine transporter mutation alters striatal dopamine neurotransmission and dopamine-dependent behaviors / G. E. DiCarlo, J. I. Aguilar, H. J. Matthies, F.

E. Harrison, K. E. Bundschuh, A. West, P. Hashemi, F. Herborg, M. Rickhag, H. Chen, U. Gether, M. T. Wallace, A. Galli // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2019. – V. 129, №8. – P. 3407-3419.

109. Dichter, G. S. Reward circuitry dysfunction in psychiatric and neurodevelopmental disorders and genetic syndromes: animal models and clinical findings / G. S. Dichter, C. A. Damiano, J. A. Allen // *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. – 2012. – V. 4, №1. – P. 19.

110. Dixit, P. V. Marble-burying behavior test as a murine model of compulsive-like behavior / P. V. Dixit, R. Sahu, D. K. Mishra // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2020. – V. 102. – P. 106676.

111. D'Mello, A. M. Cerebellar gray matter and lobular volumes correlate with core autism symptoms / A. M. D'Mello, D. Crocetti, S. H. Mostofsky, C. J. Stoodley. // *NeuroImage: Clinical*. – 2015. – V. 7. – P. 631-639.

112. Dominick, K. A Retrospective Naturalistic Study of Ziprasidone for Irritability in Youth with Autism Spectrum Disorder / K. Dominick, L. K. Wink, C. J. McDougle, C. A. Erickson // *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*. – 2015. – V. 25, №5. – P. 397-401.

113. Donovan, A. P. The neuroanatomy of autism – a developmental perspective / A. P. Donovan, M. A. Basson // *Journal of Anatomy*. – 2017. – V. 230, №1. – P. 4-15.

114. Druse, M. J. Effects of in utero ethanol exposure on the developing dopaminergic system in rats / M. J. Druse, N. Tajuddin, A. Kuo // *Journal of Neuroscience Research*. – 1990. – V. 27, № 2. – P. 233–240.

115. Dudova, I. Can Maternal Autoantibodies Play an Etiological Role in ASD Development? / I. Dudova, K. Horackova, M. Hrdlicka, M. Balastik // *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. – 2020. – V. 16. – P. 1391-1398.

116. Dufour-Rainfray, D. Behavior and serotonergic disorders in rats exposed prenatally to valproate: a model for autism / D. Dufour-Rainfray, P. Vourc'h, A. M. Le Guisquet, L. Garreau, D. Ternant, S. Bodard, E. Jaumain, Z. Gulhan, C. Belzung, C. R. Andres, S. Chalon, D. Guilloteau // *Neuroscience Letters*. – 2010. – V. 470. – P. 55-59.

117. Dykens, E. M. Autism and 15q11q13 disorders: Behavioral, genetic, and pathophysiological issues / E. M. Dykens, J. S. Sutcliffe, P. Levitt // *Mental retardation and developmental disabilities research reviews*. – 2004. – V. 10, № 4. – P. 284-291.

118. Ecker, C. Neuroanatomy and Neuropathology of Autism Spectrum Disorder in Humans / C. Ecker, M. J. Schmeisser, E. Loth, D. G. Murphy // *Advances in anatomy, embryology, and cell biology*. – 2017. – V. 224. – P. 27-48.

119. Elbe, D. Review of the pharmacotherapy of irritability of autism / D. Elbe, Z. Lalani // *Journal of the Canadian Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. – 2012. – V. 21, №2. – P. 130-146.

120. Ellegood, J. Behavioral and Neuroanatomical Phenotypes in Mouse Models of Autism / J. Ellegood, J. N. Crawley // *Neurotherapeutics*. – 2015. – V. 12, №3. – P. 521-533.
121. Ellenbroek, B. A. Does Prenatal Valproate Interact with a Genetic Reduction in the Serotonin Transporter? A Rat Study on Anxiety and Cognition / B. A. Ellenbroek, C. August, J. Youn // *Frontiers in Neuroscience*. – 2016. – V. 10. – P. 424.
122. Ergaz, Z. Genetic and non-genetic animal models for autism spectrum disorders (ASD) / Z. Ergaz, L. Weinstein-Fudim, A. Ornoy // *Reproductive Toxicology*. – 2016. – V. 64. – P. 116-140.
123. Ernst, M. Low medial prefrontal dopaminergic activity in autistic children / M. Ernst, A. J. Zametkin, J. A. Matochik, D. Pascualvaca, R. M. Cohen // *Lancet*. – 1997. – V. 350, № 9078. – P. 638.
124. Favre, M. R. General developmental health in the VPA-rat model of autism / M. R. Favre, T. R. Barkat, D. Lamendola, G. Khazen, H. Markram, K. Markram // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. – 2013. – V. 7. – P. 88.
125. Ford, T. C. Glutamate/GABA+ ratio is associated with the psychosocial domain of autistic and schizotypal traits / T. C. Ford, R. Nibbs, D. P. Crewther // *PLoS One*. – 2017. – V. 12, №7. – P. e0181961.
126. Foskett, J. K. Inositol trisphosphate receptor Ca²⁺ release channels / J. K. Foskett, C. White, K. Cheung, D. D. Mak // *Physiological Reviews*. – 2007. – V. 87. – P. 593-658.
127. Friedman, S. D. Gray and white matter brain chemistry in young children with autism / S. D. Friedman, D. W. Shaw, A. A. Artru, G. Dawson, H. Petropoulos, S. R. Dager // *Archives of General Psychiatry*. – 2006. – V. 63, №7. – P. 786-794.
128. Fujimoto, M. Sigma-1 receptor chaperones regulate the secretion of brain-derived neurotrophic factor / M. Fujimoto, T. Hayashi, R. Urfer, S. Mita, T. P. Su // *Synapse*. – 2012. – V. 66, №7. – P. 630-639.
129. Furnari, M. A. Altered behavioral development in Nrf2 knockout mice following early postnatal exposure to valproic acid / M. A. Furnari, C. L. Saw, A. N. Kong, G. C. Wagner // *Brain Research Bulletin*. – 2014. – Vol. 109 – P. 132-142.
130. Gabis, L. V. Improvement of Language in Children with Autism with Combined Donepezil and Choline Treatment / L. V. Gabis, R. Ben-Hur, S. Shefer, A. Jokel, D. B. Shalom // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2019. – V. 69, №2. – P. 224-234.
131. Gadow, K. D. Association of dopamine gene variants, emotion dysregulation and ADHD in autism spectrum disorder / K. D. Gadow, J. K. Pinsonneault, G. Perlman, W. Sadee // *Research in Developmental Disabilities*. – 2014. – V. 35, №7. – P. 1658-1665.
132. Gagnon, K. Melatonin and Comorbidities in Children with Autism Spectrum Disorder / K. Gagnon, R. Godbout // *Current developmental disorders reports*. – 2018. – V. 5, №3. – P. 197-206.

133. Gangi, D. N. Dopaminergic variants in siblings at high risk for autism: Associations with initiating joint attention / D. N. Gangi, D. S. Messinger, E. R. Martin, M. L. Cuccaro // *Autism Research*. – 2016. – V. 9, №11. – P. 1142-1150.
134. García-Oscos, F. Activation of 5-HT receptors inhibits GABAergic transmission by pre- and post-synaptic mechanisms in layer II/III of the juvenile rat auditory cortex / F. García-Oscos, O. Torres-Ramírez, L. Dinh, L. Galindo-Charles, E. A. Pérez Padilla, J. C. Pineda, M. Atzori, H. Salgado // *Synapse*. – 2015. – V. 69, №3. – P. 115-127.
135. Gaspar, P. The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics / P. Gaspar., O. Cases, L. Maroteaux // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2003. – V. 4. – P. 1002-1012.
136. Gauthier, C. Applications thérapeutiques de l'ocytocine dans l'autisme: premiers résultats et pistes de recherche / C. Gauthier, C. Doyen, I. Amado, H. Lôo, R. Gaillard // *Encephale*. – 2016. – V. 42, №1. – P. 24-31.
137. Gdalyahu, A. The Autism Related Protein Contactin-Associated Protein-Like 2 (CNTNAP2) Stabilizes New Spines: An In Vivo Mouse Study / A. Gdalyahu, M. Lazaro, O. Penagarikano, P. Golshani, J. T. Trachtenberg, D. H. Geschwind // *PLoS One*. – 2015. – V. 10, №5. – P. e0125633.
138. Ghaleiha, A. Galantamine efficacy and tolerability as an augmentative therapy in autistic children: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial / A. Ghaleiha, M. Ghyasvand, M. R. Mohammadi, M. Farokhnia, N. Yadegari, M. Tabrizi, R. Hajiaghaee, H. Yekehtaz, S. Akhondzadeh // *Journal of Psychopharmacology*. – 2014. – V. 28, №7. – P. 677-685.
139. Giorgi, C. Mitochondrial calcium homeostasis as potential target for mitochondrial medicine / C. Giorgi, C. Agnoletto, A. Bononi, M. Bonora, E. De Marchi, S. Marchi, S. Missiroli, S. Patergnani, F. Poletti, A. Rimessi, J. M. Suski, M. R. Wieckowski, P. Pinton // *Mitochondrion*. – 2012. – V. 12. – P. 77-85.
140. Goel, R. An update on pharmacotherapy of autism spectrum disorder in children and adolescents / R. Goel, J. S. Hong, R. L. Findling, N. Y. Ji // *International Review of Psychiatry*. – 2018. – V. 30, №1. – P. 78-95.
141. Gorbatova, D. M. DNA damage in the placenta and embryos of rats exposed to peat smoke: antigenotoxic effects of afobazole / D. M. Gorbatova, A. K. Zhanataev, E. P. Nemova, A. D. Durnev // *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. – 2017. – V. 7, №6. – P. 712-716.
142. Gould, G. G. Enhanced novelty-induced corticosterone spike and upregulated serotonin 5-HT_{1A} and cannabinoid CB₁ receptors in adolescent BTBR mice / G. G. Gould, T. F. Burke, M. D. Osorio, C. M. Smolik, W. Q. Zhang, E. S. Onaivi, T. T. Gu, M. N. DeSilva, J. G. Hensler // *Psychoneuroendocrinology*. – 2014. – V. 39. – P. 158-169.

143. Gozes I. Developmental Milestones in the Newborn Mouse. In: *Neuropeptide Techniques. Neuromethods №39* / I. Gozes. – Totowa, New Jersey: Humana Press Inc. – 2008. – P. 131-149.
144. Gregory, E. H. Development of olfactory-guided behavior in infant rats / E. H. Gregory, D. W. Pfaff // *Physiology and Behavior*. – 1971. – V. 6, №5. – P. 573-576.
145. Gringras, P. Efficacy and Safety of Pediatric Prolonged-Release Melatonin for Insomnia in Children With Autism Spectrum Disorder / P. Gringras, T. Nir, J. Breddy, A. Frydman-Marom, R. L. Findling // *The Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry's*. – 2017. – V. 56, №11. – P. 948-957.e4.
146. Guang, S. Synaptopathology Involved in Autism Spectrum Disorder / S. Guang, N. Pang, X. Deng, L. Yang, F. He, L. Wu, C. Chen, F. Yin, J. Peng // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2018. – V. 12. – P. 470.
147. Guo, Y. P. Serotonin neuron abnormalities in the BTBR mouse model of autism / Y. P. Guo, K. G. Commons // *Autism Research*. – 2017. – V. 10, №1. – P. 66-77.
148. Haar, S. Anatomical Abnormalities in Autism? / S. Haar, S. Berman, M. Behrmann, I. Dinstein. // *Cerebral Cortex*. – 2016. – V. 26, №4. – P. 1440-1452.
149. Hacquemand, R. Comparison between low doses of TMT and cat odor exposure in anxiety- and fear-related behaviors in mice / R. Hacquemand, N. Choffat, L. Jacquot, G. Brand // *Behavioural Brain Research*. – 2013. – V. 238. – P. 227-31.
150. Hampel, H. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease / H. Hampel, M. M. Mesulam, A. C. Cuello, M. R. Farlow, E. Giacobini, G. T. Grossberg, A. S. Khachaturian, A. Vergallo, E. Cavedo, P. J. Snyder, Z. S. Khachaturian // *Brain*. – 2018. – V. 141, №7. – P. 1917-1933.
151. Hampson, D. R. Autism spectrum disorders and neuropathology of the cerebellum / D. R. Hampson, G. J. Blatt // *Frontiers in Neuroscience*. – 2015. – V. 9. – P. 420.
152. Hanner, M. Purification, molecular cloning, and expression of the mammalian sigma1-binding site / M. Hanner, F. F. Moebius, A. Flandorfer, H. G. Knaus, J. Striessnig, E. Kempner, H. Glossmann // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1996. – V. 93, №15. – P. 8072-8077.
153. Hara, Y. Chronic Activation of the Dopaminergic Neuronal Pathway Improves Behavioral Abnormalities in the Prenatal Valproic Acid Exposure Mouse Model of Autism Spectrum Disorder / Y. Hara // *Yakugaku Zasshi*. – 2019. – V. 139, №11. – P. 1391-1396.
154. Hara, Y. Reduced prefrontal dopaminergic activity in valproic acid-treated mouse autism model / Y. Hara, K. Takuma, E. Takano, K. Katashiba, A. Taruta, K. Higashino, H. Hashimoto, Y. Ago, T. Matsuda // *Behavioural Brain Research*. – 2015. – V. 289. – P. 39-47.

155. Hara, Y. Risperidone and aripiprazole alleviate prenatal valproic acid-induced abnormalities in behaviors and dendritic spine density in mice / Y. Hara, Y. Ago, A. Taruta, S. Hasebe, H. Kawase, W. Tanabe, S. Tsukada, T. Nakazawa, H. Hashimoto, T. Matsuda, K. Takuma // *Psychopharmacology (Berlin)*. – 2017. – V. 234, №21. – P. 3217-3228.
156. Harris, S. R. Early motor delays as diagnostic clues in autism spectrum disorder / S. R. Harris // *European Journal of Pediatrics*. – 2017. – V. 176, №9. – P. 1259-1262.
157. Hashem, S. Genetics of structural and functional brain changes in autism spectrum disorder / S. Hashem, S. Nisar, A. A. Bhat, S. K. Yadav, M. W. Azeem, P. Bagga, K. Fakhro, R. Reddy, M. P. Frenneaux, M. Haris // *Translational Psychiatry*. – 2020. – V. 10, №1. – P. 229.
158. Hayashi, T. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca(2+) signaling and cell survival / T. Hayashi, T.P. Su // *Cell*. – 2007. – V. 131, №3. – P. 596-610.
159. Hayashi, T. Sigma-1 receptor ligands: potential in the treatment of neuropsychiatric disorders / T. Hayashi, T. P. Su // *CNS Drugs*. – 2004. – V. 18, №5. – P. 269-284.
160. Hayashi, T. The Sigma-1 Receptor in Cellular Stress Signaling / T. Hayashi // *Frontiers in neuroscience*. – 2019. – V. 13. – P. 733.
161. Healy, S. Prevalence of overweight and obesity among US youth with autism spectrum disorder / S. Healy, C. J. Aigner, J. A. Haegle // *Autism*. – 2019. – V. 23, №4. – P. 1046-50.
162. Hellings, J. A. Dopamine antagonists for treatment resistance in autism spectrum disorders: review and focus on BDNF stimulators loxapine and amitriptyline / J. A. Hellings, L. E. Arnold, J. C. Han // *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. – 2017. – V. 18, №6. – P. 581-588.
163. Herborg, F. Neuropsychiatric disease-associated genetic variants of the dopamine transporter display heterogeneous molecular phenotypes / F. Herborg, T. F. Andreassen, F. Berlin, C. J. Loland, U. Gether // *Journal of Biological Chemistry*. – 2018. – V. 293, №19. – P. 7250-7262.
164. Herlenius, E. Development of neurotransmitter systems during critical periods / E. Herlenius, H. Lagercrantz // *Experimental Neurology*. – 2004. – V. 190, № 1. – P. S8-21.
165. Herregodts, P. Development of monoaminergic neurotransmitters in fetal and postnatal rat brain: analysis by HPLC with electrochemical detection / P. Herregodts, B. Velkeniers, G. Ebinger, Y. Michotte, L. Vanhaelst, E. Hooghe-Peters // *Journal of Neurochemistry*. – 1990. – V. 55. – P. 774-779.
166. Hirsch, L. E. Aripiprazole for autism spectrum disorders (ASD) / L. E. Hirsch, T. Pringsheim // *Cochrane database of systematic reviews*. – 2016. – V. 2016, №6. – P. CD009043.
167. Hollander, E. A double-blind placebo-controlled trial of fluoxetine for repetitive behaviors and global severity in adult autism spectrum disorders / E. Hollander, L. Soorya, W. Chaplin, E. Anagnostou, B. P. Taylor, C. J. Ferretti, S. Wasserman, E. Swanson, C. Settiani // *American Journal of Psychiatry*. – 2012. – V. 169, №3. – P. 292-299.

168. Horder, J. Glutamate and GABA in autism spectrum disorder-a translational magnetic resonance spectroscopy study in man and rodent models / J. Horder, M. M. Petrinovic, M. A. Mendez, A. Bruns, T. Takumi, W. Spooren, G. J. Barker, B. Künnecke, D. G. Murphy // *Translational Psychiatry*. – 2018. – V. 8, №1. – P. 106.
169. Hou, Q. A Developmental Study of Abnormal Behaviors and Altered GABAergic Signaling in the VPA-Treated Rat Model of Autism / Q. Hou, Y. Wang, Y. Li, D. Chen, F. Yang, S. Wang // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. – 2018. – V. 12. – P. 182.
170. Howes, O. D. Autism spectrum disorder: Consensus guidelines on assessment, treatment and research from the British Association for Psychopharmacology / O. D. Howes, M. Rogdaki, J. L. Findon, R. H. Wichers, T. Charman, B. H. King, E. Loth, G. M. McAlonan, J. T. McCracken, J. R. Parr, C. Povey, P. Santosh, S. Wallace, E. Simonoff, D. G. Murphy // *Journal of Psychopharmacology*. – 2018. – V. 32, №1. – P. 3-29.
171. Husarova, V. M. Plasma Oxytocin in Children with Autism and Its Correlations with Behavioral Parameters in Children and Parents / V. M. Husarova, S. Lakatosova, A. Pivovarciova, K. Babinska, J. Bakos, J. Durdiakova, A. Kubranska, I. Ondrejka, D. Ostatnikova // *Psychiatry Investigation*. – 2016. – V. 13, №2. – P. 174-183.
172. Huttenlocher, P. R. Cellular neuropathology of tuberous sclerosis / P. R. Huttenlocher, R. L. Wollmann // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1991. – V. 615. – P. 140-148.
173. Hwang, B. J. Molecular imaging of autism spectrum disorder / B. J. Hwang, M. A. Mohamed, J. R. Brašić // *International Review of Psychiatry*. – 2017. – V. 39, №6. – P. 530-554.
174. Hyman, S. L., Identification, Evaluation, and Management of Children With Autism Spectrum Disorder / S. L. Hyman, S. E. Levy, S. M. Myers // *Pediatrics*. – 2020. – V. 145, №1. – P. e20193447.
175. Ichikawa, H. An open-label extension long-term study of the safety and efficacy of aripiprazole for irritability in children and adolescents with autistic disorder in Japan / H. Ichikawa, M. Hiratani, A. Yasuhara, N. Tsujii, T. Oshimo, H. Ono, Y. Tadori // *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. – 2018. – V. 72, №2. – P. 84-94.
176. Ichikawa, H. Aripiprazole in the Treatment of Irritability in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder in Japan: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Study / H. Ichikawa, K. Mikami, T. Okada, Y. Yamashita, Y. Ishizaki, A. Tomoda, H. Ono, C. Usuki, Y. Tadori // *Child Psychiatry and Human Development*. – 2017. – V. 48, №5. – P. 796-806.
177. Ingram, J. L. Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism / J. L. Ingram, S. M. Peckham, B. Tisdale, P. M. Rodier // *Neurotoxicology and Teratology*. – 2000. – V. 22. – P. 319-324.

178. Jacome, L. F. Genetically inbred Balb/c mice differ from outbred Swiss Webster mice on discrete measures of sociability: relevance to a genetic mouse model of autism spectrum disorders / L. F. Jacome, J. A. Burket, A. L. Herndon, S. I. Deutsch // *Autism Research*. – 2011. – V. 4, №6. – P. 393-400.
179. Jahan, M. S. PlexinA1 deficiency in BALB/cAJ mice leads to excessive self-grooming and reduced prepulse inhibition / M. S. Jahan, T. Ito, S. Ichihashi, T. Masuda, M.E.R. Bhuiyan, I. Takahashi, H. Takamatsu, A. Kumanogoh, T. Tsuzuki, T. Negishi, K. Yukawa // *IBRO Reports*. – 2020. – V. 9. – P. 276-289.
180. Jenabi, E. Evaluation of drug interventions for the treatment of sleep disorders in children with autism spectrum disorders: a systematic review / E. Jenabi, S. Ataei, S. Bashirian // *Korean Journal of Pediatrics*. – 2019. – V. 62, №11. – P. 405-409.
181. Jenkins, T. A. Influence of Tryptophan and Serotonin on Mood and Cognition with a Possible Role of the Gut-Brain Axis / T. A. Jenkins, J. C. Nguyen, K. E. Polglaze, P. P. Bertrand // *Nutrients*. – 2016. – V. 8, №1. – P. 56.
182. Jin, Y. The Relationship between Autism Spectrum Disorder and Melatonin during Fetal Development / Y. Jin, J. Choi, J. Won, Y. Hong // *Molecules*. – 2018. – V. 23, №1. – P. 198.
183. Jones, K. L. Maternal autoantibody related autism: mechanisms and pathways / K. L. Jones., J. Van de Water // *Molecular Psychiatry*. – 2019. – V. 24. – P. 252–265.
184. Jones-Davis, D. M. Quantitative trait loci for interhemispheric commissure development and social behaviors in the BTBR T⁺ tf/J mouse model of autism / D. M. Jones-Davis, M. Yang, E. Rider, N. C. Osburn, G. J. da Gente, J. Li, A. M. Katz, M. D. Weber, S. Sen, J. Crawley, E. H. Sherr // *PLoS One*. – 2013. – V. 8, №4. – P. e61829.
185. Jung, A. B. Development of striatal dopaminergic function. I. Pre- and postnatal development of mRNAs and binding sites for striatal D1 (D1a) and D2 (D2a) receptors / A. B. Jung, J. P. Bennett // *Developmental Brain Research*. – 1996. – V. 94. – P. 109-120.
186. Just, M. A. Cortical activation and synchronization during sentence comprehension in high-functioning autism: evidence of underconnectivity / M. A. Just, V. L. Cherkassky, T. A. Keller, N. J. Minshew // *Brain*. – 2004. – V. 127. – P. 1811-1821.
187. Kane, M. J. Mice genetically depleted of brain serotonin display social impairments, communication deficits and repetitive behaviors: possible relevance to autism / M. J. Kane, M. Angoa-Pérez, D. I. Briggs, C. E. Sykes, D. M. Francescutti, D. R. Rosenberg, D. M. Kuhn // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 11 – P. e48975.
188. Kang, J. Suppression of NMDA receptor function in mice prenatally exposed to valproic acid improves social deficits and repetitive behaviors / J. Kang, E. Kim // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. – 2015. – V. 8. – P. 17.

189. Kapitsa, I. Fabomotizole reduces behavior disturbances in an animal model of autism spectrum disorders / I. Kapitsa, Ta. Voronina, Sb. Seredenin // *European Neuropsychopharmacology*. – 2019. – V. 29, №6. – P. S361.
190. Karvat, G. Systematic autistic-like behavioral phenotyping of 4 mouse strains using a novel wheel-running assay / G. Karvat, T. Kimchi // *Behavioural Brain Research*. – 2012. – V. 233, № 2. – P. 405-414.
191. Kazdoba, T. M. Translational Mouse Models of Autism: Advancing Toward Pharmacological Therapeutics / T. M. Kazdoba, P. T. Leach, Mu Yang, J. L. Silverman, M. Solomon, J. N. Crawley // *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. – 2016. – V. 28. – P. 1-52.
192. Kim, H. Neuronal mechanisms and circuits underlying repetitive behaviors in mouse models of autism spectrum disorder / H. Kim, C. S. Lim, B. K. Kaang // *Behavioral and Brain Functions*. – 2016. – V. 12, №1. – P. 3.
193. Kim, J. W. Subchronic treatment of donepezil rescues impaired social, hyperactive, and stereotypic behavior in valproic acid-induced animal model of autism / J. W. Kim, H. Seung, K. J. Kwon, M. J. Ko, E. J. Lee, H. A. Oh, C. S. Choi, K. C. Kim, E. L. Gonzales, J. S. You, D. H. Choi, J. Lee, S. H. Han, S. M. Yang, J. H. Cheong, C. Y. Shin, G. H. Bahn // *PLoS One*. – 2014. – V. 9, №8. – P. e104927.
194. Kim, K. C. The critical period of valproate exposure to induce autistic symptoms in Sprague-Dawley rats / K. C. Kim, P. Kim, H. S. Go, C. S. Choi, S. I. Yang, J. H. Cheong, C. Y. Shin, K. H. Ko // *Toxicology Letters*. – 2011. – V. 201, № 2. – P. 137-142.
195. Kim, S. Maternal gut bacteria promote neurodevelopmental abnormalities in mouse offspring / S. Kim, H. Kim, Y. S. Yim, S. Ha, K. Atarashi, T. G. Tan, R. S. Longman, K. Honda, D. R. Littman, G. B. Choi, J. R. Huh // *Nature*. – 2017. – V. 549, №7673. – P. 528–532.
196. King, B. H. Double-blind, placebo-controlled study of amantadine hydrochloride in the treatment of children with autistic disorder / B. H. King, D. M. Wright, B. L. Handen, L. Sikich, A. W. Zimmerman, W. McMahon, E. Cantwell, P. A. Davanzo, C. T. Dourish, E. M. Dykens, S. R. Hooper, C. A. Jaselskis, B. L. Leventhal, J. Levitt, C. Lord, M. J. Lubetsky, S. M. Myers, S. Ozonoff, B. G. Shah, M. Snape, E. W. Shernoff, K. Williamson, Jr. E. H. Cook // *The Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*'s. – 2001. – V. 40, №1. – P. 658-665.
197. Klemmer, P. Proteomics, ultrastructure, and physiology of hippocampal synapses in a fragile X syndrome mouse model reveal presynaptic phenotype / P. Klemmer, R. M. Meredith, C. D. Holmgren, O. I. Klychnikov, J. Stahl-Zeng, M. Loos, R. C. van der Schors, J. Wortel, H. de Wit, S. Spijker, D. C. Rotaru, H. D. Mansvelder, A. B. Smit, K. W. Li // *Journal of Biological Chemistry*. – 2011. – V. 286, №29. – P. 25495-25504.

198. Kolozsi, E. Prenatal exposure to valproic acid leads to reduced expression of synaptic adhesion molecule neuroligin 3 in mice / E. Kolozsi, R. N. Mackenzie, F. I. Roulet, D. deCatanaro, J. A. Foster // *Neuroscience*. – 2009. – V. 163. – P. 1201-1210.
199. Krols, M. ER-mitochondria contact sites: a new regulator of cellular calcium flux comes into play / M. Krols, G. Bultynck, S. Janssens // *Journal of Cell Biology*. – 2016. – V. 214. – P. 367-370.
200. Kudryavtseva, N. N. Experience of defeat decreases the behavioural reactivity to conspecifics in the partition test / N. N. Kudryavtseva // *Behavioural Processes*. – 1994. – V. 32, № 3. – P. 297-304.
201. Kusumi, I. Psychopharmacology of atypical antipsychotic drugs: From the receptor binding profile to neuroprotection and neurogenesis / I. Kusumi, S. Boku, Y. Takahashi // *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. – 2015. – V. 69, №5. – P. 243-258.
202. Lai, M. C. Autism / M. C. Lai, M. V. Lombardo, S. Baron-Cohen // *Lancet*. – 2014 – V. 383. – P. 896-910.
203. Lajtha, N. S. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology*. 3rd ed / N. S. Lajtha, A. Johnson, A. Dianna. – New York. – 2007. – 549 p.
204. Lammert, C. R. Modeling Autism-Related Disorders in Mice with Maternal Immune Activation (MIA) / C. R. Lammert, J. R. Lukens // *Methods in Molecular Biology*. – 2019. – V. 1960. – P. 227-236.
205. Lang, M. Effects of Anxiety on Spontaneous Ritualized Behavior / M. Lang, J. Krátký, J. H. Shaver, D. Jerotijević, D. Xygalatas // *Current Biology*. – 2015. – V. 25, № 14. – P. 1892-1897.
206. Larner, O. A Need for Consistency in Behavioral Phenotyping for ASD: Analysis of the Valproic Acid Model / O. Larner, J Roberts, J Twiss, L Freeman// *Autism Research and Treatment*. – 2021. – V. 2021. – P. 8863256.
207. Lee, E. S. A Focused Review on the Treatment of Pediatric Patients with Atypical Antipsychotics / E. S. Lee, C. Vidal, R. L. Findling // *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*. – 2018. – V. 28, №9. – P. 582-605.
208. Lee, M. Nicotinic receptor abnormalities in the cerebellar cortex in autism / M. Lee, C. Martin-Ruiz, A. Graham, J. Court, E. Jaros, R. Perry, P. Iversen, M. Bauman, E. Perry // *Brain*. – 2002. – V. 125 (Pt 7). – P. 1483-1495.
209. Lee, T. T.-Y. Timing is everything: evidence for a role of corticolimbic endocannabinoids in modulating hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity across developmental periods / T. T.-Y. Lee, B. B. Gorzalka // *Neuroscience*. – 2012. – V. 204. – P. 17-30.

210. Lee, Y. Excessive D1 Dopamine Receptor Activation in the Dorsal Striatum Promotes Autistic-Like Behaviors / Y. Lee, H. Kim, J. E. Kim, J. Y. Park, J. Choi, J. E. Lee, E. H. Lee, P. L. Han // *Molecular Neurobiology*. – 2018. – V. 55, №7. – P. 5658-5671.
211. Lemcke, S. Early signs of autism in toddlers: a follow-up study in the Danish National Birth Cohort / S. Lemcke, S. Juul, E. T. Parner, M. B. Lauritsen, P. Thorsen // *Journal of Autism and Developmental Disorders*. – 2013. – V. 43, №10. – P. 2366–2375.
212. Lemonnier, E. Effects of bumetanide on neurobehavioral function in children and adolescents with autism spectrum disorders / E. Lemonnier, N. Villeneuve, S. Sonie, S. Serret, A. Rosier, M. Roue, P. Brosset, M. Viellard, D. Bernoux, S. Rondeau, S. Thummler, D. Ravel, Y. Ben-Ari // *Translational Psychiatry*. – 2017. – V. 7, №5. – P. e1124.
213. Léna, C. Beta2-containing nicotinic receptors contribute to the organization of sleep and regulate putative micro-arousals in mice / C. Léna, D. Popa, R. Grailhe, P. Escourrou, J. P. Changeux, J. Adrien // *The Journal of Neuroscience*. – 2004. – V. 24, №25. – P. 5711-5718.
214. Li, P. Dopamine Targeting Drugs for the Treatment of Schizophrenia: Past, Present and Future / P. Li, G. L. Snyder, K. E. Vanover // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. – 2016. – V. 16. – P. 3385-3403.
215. Li, Q. Decreased interhemispheric functional connectivity rather than corpus callosum volume as a potential biomarker for autism spectrum disorder / Q. Li, B. Becker, X. Jiang, Z. Zhao, Q. Zhang, S. Yao, K. M. Kendrick // *Cortex*. – 2019. – V. 119. – P. 258-266.
216. Li, W. Excitatory synapses are stronger in the hippocampus of Rett syndrome mice due to altered synaptic trafficking of AMPA-type glutamate receptors / W. Li, X. Xu, L. Pozzo-Miller // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2016. – V. 113, №11. – P. E1575-1584.
217. Liao, X. Genetic associations between voltage-gated calcium channels and autism spectrum disorder: a systematic review / X. Liao, Y. Li // *Molecular Brain*. – 2020. – V. 13, №1. – P. 96.
218. Liu, X. Protective effect of taurine on the decreased biogenic amine neurotransmitter levels in the brain of mice exposed to arsenic / X. Liu, F. Piao, Y. Li // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. — 2013. — V. 776. — P. 277-287.
219. Loebel, A. Lurasidone for the Treatment of Irritability Associated with Autistic Disorder / A. Loebel, M. Brams, R. S. Goldman, R. Silva, D. Hernandez, D. Deng, R. Mankoski, R. L. Findling // *Journal of Autism and Developmental Disorders*. – 2016. – V. 46, №4. – P. 1153-1163.
220. Loscher, W. Valproic acid: metabolite concentrations in plasma and brain, anticonvulsant activity, and effects on GABA metabolism during subacute treatment in mice / W.

Loscher, H. Nau // Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie. – 1982. – V. 257. – P. 20-31.

221. Lucchina, L. Altered peripheral and central inflammatory responses in a mouse model of autism / L. Lucchina, A. M. Depino // Autism Research. – 2014. – V. 7. – P. 273-289.

222. Mabunga, D. F. Exploring the Validity of Valproic Acid Animal Model of Autism / D. F. Mabunga, E. L. Gonzales, J. W. Kim, K. C. Kim, C. Y. Shin // Experimental Neurobiology. – 2015. – V. 24, №4. – P. 285-300.

223. Maenner, M. J. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years – Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2016 / M. J. Maenner, K. A. Shaw, J. Baio, A. Washington, M. Patrick, M. DiRienzo, D. L. Christensen, L. D. Wiggins, S. Pettygrove, J. G. Andrews, M. Lopez, A. Hudson, T. Baroud, Y. Schwenk, T. White, C. R. Rosenberg, L. C. Lee, R. A. Harrington, M. Huston, A. Hewitt, A. Esler, J. Hall-Lande, J. N. Poynter, L. Hallas-Muchow, J. N. Constantino, R. T. Fitzgerald, W. Zahorodny, J. Shenouda, J. L. Daniels, Z. Warren, A. Vehorn, A. Salinas, M. S. Durkin, P. M. Dietz. // Morbidity and Mortality Weekly Report – Surveillance Summaries. – 2020. – V. 69, № 4. – P. 1-12.

224. Mahdavi, M. Meta-Analysis of the Association between GABA Receptor Polymorphisms and Autism Spectrum Disorder (ASD) / M. Mahdavi, M. Kheirollahi, R. Riahi, F. Khorvash, M. Khorrami, M. Mirsafoie // Journal of Molecular Neuroscience. – 2018. – V. 65, №1. – P. 1-9.

225. Maneeton, N. Risperidone for children and adolescents with autism spectrum disorder: a systematic review / N. Maneeton, B. Maneeton, S. Putthisri, P. Woottitluk, A. Narkpongphun, M. Srisurapanont // Neuropsychiatric Disease and Treatment. – 2018. – V. 14. – P. 1811-1820. (o 45)+

226. Mannens, G. Absorption, metabolism, and excretion of risperidone in humans / G. Mannens, M. L. Huang, W. Meuldermans, J. Hendrickx, R. Woestenborghs, J. Heykants // Drug Metabolism and Disposition. – 1993. – V. 21, №6. – P. 1134-1141.

227. Marotta, R. The Neurochemistry of Autism / R. Marotta, M. C. Risoleo, G. Messina, L. Parisi, M. Carotenuto, L. Vetri, M. Roccella // Brain Sciences. – 2020. – V. 10, №3. – P. 163.

228. Martin-Ruiz, C. M. Molecular analysis of nicotinic receptor expression in autism / C. M. Martin-Ruiz, M. Lee, R. H. Perry, M. Baumann, J. A. Court, E. K. Perry // Molecular Brain Research. – 2004. – V. 123 (1-2). – P. 81-90.

229. Maurice, T. Sigma-1 (σ 1) Receptor in Memory and Neurodegenerative Diseases / T. Maurice, N. Gogvadze // Handbook of Experimental Pharmacology. – 2017. – V. 244. – P. 81-108.

230. Mei, Y. Adult restoration of Shank3 expression rescues selective autistic-like phenotypes / Y. Mei, P. Monteiro, Y. Zhou, J. A. Kim, X. Gao, Z. Fu, G. Feng // Nature. – 2016. – V. 530. – P. 481-484.

231. Melkumyan, D. S. Analysis of BDNF in Brain Structures of Inbred Mice with Different Phenotypes of Mental and Stress Reaction / D. S. Melkumyan, T. S. Seredenina, M. A. Yarkova, E. A. Valdman, S. B. Seredenin // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2005. – V. 140, №11. – P. 549-551.
232. Meunier, J. Sigma-1 receptors regulate Bcl-2 expression by reactive oxygen species-dependent transcriptional regulation of nuclear factor kappaB / J. Meunier, T. Hayashi // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2010. – V. 332, №2. – P. 388-397.
233. Miller, H. L. Cognitive set shifting deficits and their relationship to repetitive behaviors in autism spectrum disorder / H. L. Miller, M. E. Ragozzino, E. H. Cook, J. A. Sweeney, M. W. Mosconi // *Journal of Autism and Developmental Disorders*. – 2015. – V.45, № 3. – P. 805-815.
234. Minshawi, N. F. A randomized, placebo-controlled trial of D-cycloserine for the enhancement of social skills training in autism spectrum disorders / N. F. Minshawi, L. K. Wink, R. Shaffer, M. H. Plawecki, D. J. Posey, H. Liu, S. Hurwitz, C. J. McDougale, N. B. Swiezy, C. A. Erickson // *Molecular Autism*. – 2016. – V. 7. – P. 2.
235. Minzer, K Increased prefrontal D2 protein in Tourette syndrome: a postmortem analysis of frontal cortex and striatum / K. Minzer, O. Lee, J. J. Hong, H. S. Singer // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2004. – V. 219, №1-1. – P. 55-61.
236. Mishra, A. K. The sigma-1 receptors are present in monomeric and oligomeric forms in living cells in the presence and absence of ligands / A. K. Mishra, T. Mavlyutov, D. R. Singh, G. Biener, J. Yang, J. A. Oliver, A. Ruoho, V. Raicu // *Biochemical Journal*. – 2015. – V. 466, №2. – P. 263-271.
237. Mizuguchi, M. Neuropathology of tuberous sclerosis / M. Mizuguchi, S. Takashima // *Brain and Development*. – 2001. – V. 23, №7. – P. 508-515.
238. Morales-Lázaro, S. L. Molecular Interplay Between the Sigma-1 Receptor, Steroids, and Ion Channels / S. L. Morales-Lázaro, R. González-Ramírez, T. Rosenbaum // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019. – V. 10. – P. 419.
239. Mori, K. The unfolded protein response: the dawn of a new field / K. Mori // *Proceedings of the Japan Academy. Series B. Physical and biological sciences*. – 2015. – V. 91. – P. 469–480.
240. Mori, T. Sigma-1 receptor chaperone at the ER-mitochondrion interface mediates the mitochondrion-ER-nucleus signaling for cellular survival / T. Mori, T. Hayashi, E. Hayashi, T. P. Su // *PLoS One*. – 2013. – V. 8. – P. e76941.
241. Moy, S. S. Mouse behavioral tasks relevant to autism: phenotypes of 10 inbred strains / S. S. Moy, J. J. Nadler, N. B. Young, A. Perez, L. P. Holloway, R. P. Barbaro, J. R. Barbaro, L. M.

Wilson, D. W. Threadgill, J. M. Lauder, T. R. Magnuson, J. N. Crawley // Behavioural Brain Research. – 2007. – V. 176, №1. – P. 4-20.

242. Moy, S. S. Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice / S. S. Moy, J. J. Nadler, A. Perez, R. P. Barbaro, J. M. Johns, T. R. Magnuson, J. Piven, J. N. Crawley // Genes, Brain and Behavior. – 2004. – V. 3, №5. – P. 287-302.

243. Myers, S. M. Management of autism spectrum disorders in primary care / S. M. Myers // Pediatric Annals. – 2009. – V. 38, № 1. – P. 42–49.

244. Naaijen, J. Glutamatergic and GABAergic gene sets in attention-deficit/hyperactivity disorder: association to overlapping traits in ADHD and autism / J. Naaijen, J. Bralten, G. Poelmans, J. C. Glennon, B. Franke, J. K. Buitelaar // Translational Psychiatry. – 2017. – V. 7, №1. – P. e999.

245. Nakai, N. Serotonin rebalances cortical tuning and behavior linked to autism symptoms in 15q11-13 CNV mice / N. Nakai, M. Nagano, F. Saitow, Y. Watanabe, Y. Kawamura, A. Kawamoto, K. Tamada, H. Mizuma, H. Onoe, Y. Watanabe, H. Monai, H. Hirase, J. Nakatani, H. Inagaki, T. Kawada, T. Miyazaki, M. Watanabe, Y. Sato, S. Okabe, K. Kitamura, M. Kano, K. Hashimoto, H. Suzuki, T. Takumi // Science Advances. – 2017. – V. 3, №6. – P. e1603001.

246. Nakasato, A. Swim stress exaggerates the hyperactive mesocortical dopamine system in a rodent model of autism / A. Nakasato, Y. Nakatani, Y. Seki, N. Tsujino, M. Umino, H. Arita // Brain Research. – 2008. – V. 1193. – P. 128-135.

247. Naveed, S. Use of N-Acetylcysteine in Psychiatric Conditions among Children and Adolescents: A Scoping Review / S. Naveed, A. Amray, A. Waqas, A. M. Chaudhary, M. W. Azeem // Cureus. – 2017. – V. 9, №11. – P. e1888.

248. Neuhofer, D. Functional and structural deficits at accumbens synapses in a mouse model of Fragile X / D. Neuhofer, C. M. Henstridge, B. Dudok, M. Sepers, O. Lassalle, I. Katona, O. J. Manzoni // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2015. – V. 9. – P. 100.

249. Nguyen, L. Sigma-1 Receptors and Neurodegenerative Diseases: Towards a Hypothesis of Sigma-1 Receptors As Amplifiers of Neurodegeneration and Neuroprotection / L. Nguyen, B. P. Lucke-Wold, S. Mookerjee, N. Kaushal, R. R. Matsumoto. // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2017. – V. 964. – P. 133-152.

250. Nguyen, M. Decoding the contribution of dopaminergic genes and pathways to autism spectrum disorder (ASD) / M. Nguyen, A. Roth, E. J. Kyzar, M. K. Poudel, K. Wong, A. M. Stewart, A. V. Kalueff // Neurochemistry International. – 2014. – V. 66. – P. 15-26.

251. Nguyen, R. L. Intracellular calcium dysregulation in autism spectrum disorder: An analysis of converging organelle signaling pathways / R. L. Nguyen, Y. V. Medvedeva, T. E.

Ayyagari, G. Schmunk, J. J. Gargus // *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research.* – 2018. – V. 1865, №11, Pt B. – P. 1718-1732.

252. Nicolini, C. Decreased mTOR signaling pathway in human idiopathic autism and in rats exposed to valproic acid / C. Nicolini, Y. Ahn, B. Michalski, J. M. Rho, M. Fahnestock // *Acta Neuropathologica Communications.* – 2015. – V. 3. – P. 3.

253. Nicolini, C. The valproic acid-induced rodent model of autism / C. Nicolini, M. Fahnestock // *Experimental Neurology.* – 2018. – V. 299. – P. 217–227.

254. Olloquequi, J. Excitotoxicity in the pathogenesis of neurological and psychiatric disorders: Therapeutic implications / J. Olloquequi, E. Cornejo-Córdova, E. Verdaguer, F. X. Soriano, O. Binvinat, C. Auladell, A. Camins // *Journal of Psychopharmacology.* – 2018. – V. 32, №3. – P. 265-275.

255. Olmos-Serrano, J. L. Defective GABAergic neurotransmission and pharmacological rescue of neuronal hyperexcitability in the amygdala in a mouse model of fragile X syndrome / J. L. Olmos-Serrano, S. M. Paluszkiwicz, B. S. Martin, W. E. Kaufmann, J. G. Corbin, M. M. Huntsman // *The Journal of Neuroscience.* – 2010. – V. 30, №29. – P. 9929-9938.

256. Ooi, Y. P. Oxytocin and Autism Spectrum Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials / Y. P. Ooi, S. J. Weng, J. Kossowsky, H. Gerger, M. Sung // *Pharmacopsychiatry.* – 2017. – V. 50, №1. – P. 5-13.

257. Parker, K. J. Intranasal oxytocin treatment for social deficits and biomarkers of response in children with autism / K. J. Parker, O. Oztan, R. A. Libove, R. D. Sumiyoshi, L. P. Jackson, D. S. Karhson, J. E. Summers, K. E. Hinman, K. S. Motonaga, J. M. Phillips, D. S. Carson, J. P. Garner, A. Y. Hardan // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2017. – V. 114, №30. – P. 8119-8124.

258. Parker, K. J. Plasma oxytocin concentrations and OXTR polymorphisms predict social impairments in children with and without autism spectrum disorder / K. J. Parker, J. P. Garner, R. A. Libove, S. A. Hyde, K. B. Hornbeak, D. S. Carson, C. P. Liao, J. M. Phillips, J. F. Hallmayer, A. Y. Hardan // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2014. – V. 111, №33. – P. 12258-12263.

259. Pavál, D. A Dopamine Hypothesis of Autism Spectrum Disorder / D. Pavál // *Developmental Neuroscience.* – 2017. – V. 39, №5. – P. 355-360.

260. Penke, B. The Role of Sigma-1 Receptor, an Intracellular Chaperone in Neurodegenerative Diseases / B. Penke, L. Fulop, M. Szucs, E. Frecska // *Current Neuropharmacology.* – 2018. – V. 16, №1. – P. 97-116.

261. Penn, H. E. Neurobiological correlates of autism: a review of recent research / H. E. Penn // *Child Neuropsychology.* – 2006. – V. 12, № 1. – P. 57–79.

262. Poo, S. X. Atypical Antipsychotics for Schizophrenia and/or Bipolar Disorder in Pregnancy: Current Recommendations and Updates in the NICE Guidelines / S. X. Poo, M. Agius // *Psychiatria Danubina*. – 2015. – V. 27. – P. S255-S260.
263. Puts, N. A. J. Reduced GABA and altered somatosensory function in children with autism spectrum disorder / N. A. J. Puts, E. L. Wodka, A. D. Harris, D. Crocetti, M. Tommerdahl, S. H. Mostofsky, R. A. E. Edden // *Autism Research*. – 2017. – V. 10, №4. – P. 608-619.
264. Qiu, S. Prevalence of autism spectrum disorder in Asia: A systematic review and meta-analysis / S. Qiu, Y. Lu, Y. Li, J. Shi, H. Cui, Y. Gu, Y. Li, W. Zhong, X. Zhu, Y. Liu, Y. Cheng, Y. Liu, Y. Qiao // *Psychiatry Research*. – 2020. – V. 284. – P. 112679.
265. Radyushkin, K. Neuroligin-3-deficient mice: model of a monogenic heritable form of autism with an olfactory deficit / K. Radyushkin, K. Hammerschmidt, S. Boretius, F. Varoqueaux, A. El-Kordi, A. Ronnenberg, D. Winter, J. Frahm, J. Fischer, N. Brose, H. Ehrenreich // *Genes, Brain and Behavior*. – 2009. – V. 8. – P. 416-425.
266. Rajamani, K. T. Oxytocin as a Modulator of Synaptic Plasticity: Implications for Neurodevelopmental Disorders / K. T. Rajamani, S. Wagner, V. Grinevich, H. Harony-Nicolas // *Frontiers in Synaptic Neuroscience*. – 2018. – V. 10. – P. 17.
267. Remington, G. Clomipramine versus haloperidol in the treatment of autistic disorder: a double-blind, placebo-controlled, crossover study / G. Remington, L. Sloman, M. Konstantareas, K. Parker, R. Gow // *Journal of Clinical Psychopharmacology*. – 2001. – V. 21, №4. – P. 440-444.
268. Rinaldi, T. Elevated NMDA receptor levels and enhanced postsynaptic long-term potentiation induced by prenatal exposure to valproic acid / T. Rinaldi, K. Kulangara, K. Antoniello, H. Markram // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2007. – V. 104, №33. – P. 13501-13506.
269. Rizzuto, R. Mitochondria as sensors and regulators of calcium signaling / R. Rizzuto, D. De Stefani, A. Raffaello, C. Mammucari // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2012. – V. 13. – P. 566-578.
270. Rogge, N. The Economic Costs of Autism Spectrum Disorder: A Literature Review / N. Rogge, J. Janssen // *Journal of Autism and Developmental Disorders*. – 2019. – V. 49, №7. – P. 2873-2900.
271. Romero, L. Trends in Sigma-1 Receptor Research: A 25-Year Bibliometric Analysis / L. Romero, E. Portillo-Salido // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019. – V. 10. – P. 564.
272. Rose, S. Clinical and Molecular Characteristics of Mitochondrial Dysfunction in Autism Spectrum Disorder / S. Rose, D.M. Niyazov, D.A. Rossignol, M. Goldenthal, S.G. Kahler, R.E. Frye // *Molecular Diagnosis and Therapy*. – 2018. – V. 22, №5. – P. 571-593.

273. Ross, S. A. Phenotypic characterization of an alpha 4 neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit knock-out mouse / S. A. Ross, J. Y. Wong, J. J. Clifford, A. Kinsella, J. S. Massalas, M. K. Horne, I. E. Scheffer, I. Kola, J. L. Waddington, S. F. Berkovic, J. Drago // *The Journal of Neuroscience*. – 2000. – V. 20, №17. – P. 6431-6441.
274. Rossignol, D. A. Melatonin in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis / D. A. Rossignol, R. E. Frye // *Developmental Medicine and Child Neurology*. – 2011. – V. 53, №9. – P. 783-792.
275. Rouillet, F. I. Behavioral and molecular changes in the mouse in response to prenatal exposure to the anti-epileptic drug valproic acid / F. I. Rouillet, L. Wollaston, D. Decatanzaro, J. A. Foster. // *Neuroscience*. – 2010. – V. 170, № 2. – P. 514-522.
276. Roy, A. Are opioid antagonists effective in attenuating the core symptoms of autism spectrum conditions in children: a systematic review / A. Roy, M. Roy, S. Deb, G. Unwin, A. Roy // *Journal of Intellectual Disability Research*. – 2015. – V. 59, №4. – P. 293-306.
277. Ryan, B. C. Social deficits, stereotypy and early emergence of repetitive behavior in the C58/J inbred mouse strain / B. C. Ryan, N. B. Young, J. N. Crawley, J. W. Bodfish, S. S. Moy // *Behavioural Brain Research*. – 2010. – V. 208. – P. 178-188.
278. Ryan, K. Inbred strain preference in the BTBR T+ Itpr3tf /J mouse model of autism spectrum disorder: Does the stranger mouse matter in social approach? / K. Ryan, L. Thompson, P. A. Mendoza, K. K. Chadman // *Autism Research*. – 2019. – V. 12, №8. – P. 1184-1191.
279. Sandman, C. A. Opioid Antagonists May Reverse Endogenous Opiate “Dependence” in the Treatment of Self-Injurious Behavior / C. A. Sandman, A. S. Kemp // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2011. – V. 4, №2. – P. 366-381.
280. Santini, E. Exaggerated translation causes synaptic and behavioural aberrations associated with autism / E. Santini, T. N. Huynh, A. F. MacAskill, A. G. Carter, P. Pierre, D. Ruggero, H. Kaphzan, E. Klann // *Nature*. – 2013. – V. 493, №7432. – P. 411-415.
281. Scattoni, M. L. Reduced social interaction, behavioural flexibility and BDNF signalling in the BTBR T+tf/J strain, a mouse model of autism / M. L. Scattoni, A. Martire, G. Cartocci, A. Ferrante, L. Ricceri // *Behavioural Brain Research*. – 2013. – V. 251. – P. 35-40.
282. Schambra, U. B. Ontogeny of D1A and D2 dopamine receptor subtypes in rat brain using in situ hybridization and receptor binding / U. B. Schambra, G. E. Duncan, G. R. Breese, M. G. Fornaretto, M. G. Caron, R. T. Jr. Fremeau // *Journal of Neuroscience*. – 1994. – V. 62, № 1. – P. 65-85.
283. Schmitz, T. W. Normalization and the Cholinergic Microcircuit: A Unified Basis for Attention / T. W. Schmitz, J. Duncan // *Trends in Cognitive Sciences*. – 2018. – V. 22, №5. – P. 422-437.

284. Schmunk, G. High-throughput screen detects calcium signaling dysfunction in typical sporadic autism spectrum disorder / G. Schmunk, R. L. Nguyen, D. L. Ferguson, K. Kumar, I. Parker, J. J. Gargus // *Scientific Reports*. – 2017. – V. 7. – P. 40740.
285. Schmunk, G. Shared functional defect in IP3R-mediated calcium signaling in diverse monogenic autism syndromes / G. Schmunk, B. J. Boubion, I. F. Smith, I. Parker, J. J. Gargus // *Translational Psychiatry*. – 2015. – V. 5, №9. – P. e643.
286. Schneider, T. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism / T. Schneider, R. Przewłocki // *Neuropsychopharmacology*. – 2005. – V. 30. – P. 80-89.
287. Seeman, P. Dopamine D2 receptors as treatment targets in schizophrenia / P. Seeman // *Clinical Schizophrenia and Related Psychoses*. – 2010. – V. 4, №1. – P. 56-73.
288. Segovia, S. Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors / S. Segovia, A. Guillamón // *Brain research reviews*. – 1993. – V. 18, №1. – P. 51-74.
289. Seredenin, S. B. Interaction of Afobazole with $\sigma 1$ -Receptors / S. B. Seredenin, T. A. Antipova, M. V. Voronin, S. Y. Kurchashova, A. N. Kuimov // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2009. – V. 148. – P. 42-44.
290. Shea, S. Risperidone in the treatment of disruptive behavioral symptoms in children with autistic and other pervasive developmental disorders / S. Shea, A. Turgay, A. Carroll, M. Schulz, H. Orlik, I. Smith, F. Dunbar // *Pediatrics*. – 2004. – V. 114, №5. – P. e634-e641.
291. Shetty, A. K. Potential of GABA-ergic cell therapy for schizophrenia, neuropathic pain, and Alzheimer's and Parkinson's diseases / A. K. Shetty, A. Bates // *Brain Research*. – 2016. – V. 1638 (Pt A). – P. 74-87.
292. Silverman, J. L. Behavioral phenotyping assay for mouse models of autism / J. L. Silverman, M. Yang, K. Lord, J. N. Crawley // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2010. – V. 11, №7. – P. 490-502.
293. Silverman, J. L. GABAB Receptor Agonist R-Baclofen Reverses Social Deficits and Reduces Repetitive Behavior in Two Mouse Models of Autism / J. L. Silverman, M. C. Pride, J. E. Hayes, K. R. Puhger, H. M. Butler-Struben, S. Baker, J. N. Crawley // *Neuropsychopharmacology*. – 2015. – V. 40, №9. – P. 2228-2239.
294. Smith, S. E. Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6 / S. E. Smith, J. Li, K. Garbett, K. Mirnics, P. H. Patterson // *The Journal of Neuroscience*. – 2007. – V. 27, №40. – P. 10695-10702.

295. Souders, M. C. Sleep in Children with Autism Spectrum Disorder / M. C. Souders, S. Zavodny, W. Eriksen, R. Sinko, J. Connell, C. Kerns, R. Schaaf, J. Pinto-Martin // *Current Psychiatry Reports*. – 2017. – V. 19, №6. – P. 34.
296. Squillace, M. Dysfunctional dopaminergic neurotransmission in asocial BTBR mice / M. Squillace, L. Doderio, M. Federici, S. Migliarini, F. Errico, F. Napolitano, P. Krashia, A. Di Maio, A. Galbusera, A. Bifone, M. L. Scattoni, M. Pasqualetti, N. B. Mercuri, A. Usiello, A. Gozzi // *Translational Psychiatry*. – 2014. – V. 4, №8. – P. e427.
297. Staal, W. G. DRD3 gene and striatum in autism spectrum disorder / W. G. Staal, M. Langen, S. van Dijk, V. T. Mensen, S. Durston // *British Journal of Psychiatry*. – 2015. – V. 206, №5. – P. 431-432.
298. Stoodley, C. J. Distinct regions of the cerebellum show gray matter decreases in autism, ADHD, and developmental dyslexia / C. J. Stoodley // *Frontiers in Systems Neuroscience*. – 2014. – V. 8. – P. 92.
299. Stutzmann, G. E. Endoplasmic reticulum Ca²⁺ handling in excitable cells in health and disease / G. E. Stutzmann, M. P. Mattson // *Pharmacological Reviews*. – 2011. – V. 63. – P. 700-727.
300. Su, T. P. The Sigma-1 Receptor as a Pluripotent Modulator in Living Systems / T. P. Su, T. C. Su, Y. Nakamura, S. Y. Tsai // *Trends in Pharmacological Sciences*. – 2016. – V. 37, №4. – P. 262-278.
301. Sugimoto, Y. Effects of the serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor (SNRI) milnacipran on marble burying behavior in mice / Y. Sugimoto, N. Tagawa, Y. Kobayashi, Y. Hotta, J. Yamada // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 2007. – V. 12. – P. 2399-2401.
302. Sun, X. Autism prevalence in China is comparable to Western prevalence / X. Sun, C. Allison, L. Wei, F. E. Matthews, B. Auyeung, Y. Y. Wu, S. Griffiths, J. Zhang, S. Baron-Cohen, C. Brayne // *Molecular Autism*. – 2019. – V. 10. – P. 7.
303. Sweigert, J. R. Characterizing olfactory function in children with autism spectrum disorder and children with sensory processing dysfunction / J. R. Sweigert, T. St. John, K. K. Begay, G. E. Davis, J. Munson, E. Shankland, A. Estes, S. R. Dager, N. M. Kleinhans // *Brain Sciences*. – 2020. – V. 10, №6. – P. 362.
304. Takeuchi, Y. Developmental changes in cerebrospinal fluid concentrations of monoamine-related substances revealed with a coulochem electrode array system / Y. Takeuchi, H. Matsushita, H. Sakai, H. Kawano, K. Yoshimoto, T. Sawada // *Journal of Child Neurology*. – 2000. – V. 15. – P. 267-272.
305. Tartaglione, A. M. Prenatal valproate in rodents as a tool to understand the neural underpinnings of social dysfunctions in autism spectrum disorder / A. M. Tartaglione, S. Schiavi, G. Calamandrei, V. Trezza // *Neuropharmacology*. 2019. – V. 159. – P. 107477.

306. Taylor, C. W. Structural organization of signalling to and from IP3 receptors / C. W. Taylor, S. C. Tovey, A. M. Rossi, C. I. Lopez Sanjurjo, D. L. Prole, T. Rahman // *Biochemical Society Transactions*. – 2014. – V. 42. – P. 63-70.
307. Taylor, G. T. Marble burying as compulsive behaviors in male and female mice / G. T. Taylor, S. Lerch, S. Chourbaji // *Acta Neurobiologiae Experimentalis (Wars)*. – 2017. – V. 77, №3. – P. 254-260.
308. Teitelbaum, P. Movement analysis in infancy may be useful for early diagnosis of autism / P. Teitelbaum, O. Teitelbaum, J. Nye, J. Fryman, R. G. Maurer // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1998. – V. 95, №23. – P. 13982–13987.
309. Thomas, A. Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety / A. Thomas, A. Burant, N. Bui, D. Graham, L. A. Yuva-Paylor, R. Paylor // *Psychopharmacology (Berlin)*. – 2009. – V. 204, № 2 – P. 361-373.
310. Tordjman, S. Advances in the research of melatonin in autism spectrum disorders: literature review and new perspectives / S. Tordjman, I. Najjar, E. Bellissant, G. M. Anderson, M. Barburoth, D. Cohen, N. Jaafari, O. Schischmanoff, R. Fagard, E. Lagdas, S. Kermarrec, S. Ribardiere, M. Botbol, C. Fougerou, G. Bronsard, J. Vernay-Leconte. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2013. – V. 14, №10. – P. 20508-20542.
311. Tsujino, N. Abnormality of circadian rhythm accompanied by an increase in frontal cortex serotonin in animal model of autism / N. Tsujino, Y. Nakatani, Y. Seki, A. Nakasato, M. Nakamura, M. Sugawara, H. Arita // *Neuroscience Research*. – 2007. – V. 57. – P. 289-295.
312. Uhlhaas, P. J. What do disturbances in neural synchrony tell us about autism? / P. J. Uhlhaas, W. Singer // *Biological Psychiatry*. – 2007. – V. 62. – P. 190-191.
313. Varghese, M. Autism spectrum disorder: neuropathology and animal models / M. Varghese, N. Keshav, S. Jacot-Descombes, T. Warda, B. Wicinski, D. L. Dickstein, H. Harony-Nicolas, S. De Rubeis, E. Drapeau, J. D. Buxbaum, P. R. Hof // *Acta Neuropathologica*. – 2017. – V. 134, №4. – P. 537-566.
314. Varman, D. R. GABA β 3 expression in lobule X of the cerebellum is reduced in the valproate model of autism / D. R. Varman, M. B. Soria-Ortíz, A. Martínez-Torres, D. Reyes-Haro // *Neuroscience Letters*. – 2018. – V. 687. – P. 158-163.
315. Vavers, E. Allosteric Modulators of Sigma-1 Receptor: A Review / E. Vavers, L. Zvejniece, T. Maurice, M. Dambrova // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019. – V. 10. – P. 223.
316. Veenstra-VanderWeele, J. Arbaclofen in Children and Adolescents with Autism Spectrum Disorder: A Randomized, Controlled, Phase 2 Trial / J. Veenstra-VanderWeele, E. H. Cook, B. H. King, P. Zarevics, M. Cherubini, K. Walton-Bowen, M. F. Bear, P. P. Wang, R. L. Carpenter // *Neuropsychopharmacology*. – 2017. – V. 42, №7. – P. 1390-1398.

317. Veenstra-VanderWeele, J. Autism gene variant causes hyperserotonemia, serotonin receptor hypersensitivity, social impairment and repetitive behavior / J. Veenstra-VanderWeele, C. L. Muller, H. Iwamoto, J. E. Sauer, W. A. Owens, C. R. Shah, J. Cohen, P. Mannangatti, T. Jessen, B. J. Thompson, R. Ye, T. M. Kerr, A. M. Carneiro, J. N. Crawley, E. Sanders-Bush, D. G. McMahon, S. Ramamoorthy, L. C. Daws, J. S. Sutcliffe, R. D. Blakely // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2012. – V. 109, №14. – P. 5469-5474.
318. Verney, C. Changing distribution of monoaminergic markers in the developing human cerebral cortex with special emphasis on the serotonin transporter / C. Verney, C. Lebrand, P. Gaspar // *Anatomical Record*. – 2002. – V. 267. – P. 87– 93.
319. Voronin, M. V. Involvement of Chaperone Sigma1R in the Anxiolytic Effect of Fabomotizole / M. V. Voronin, Y. V. Vakhitova, I. P. Tsypysheva, D. O. Tsypyshev, I. V. Rybina, R. D. Kurbanov, E. V. Abramova, S. B. Seredenin // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – V. 22, №11. – P.5455.
320. Wagner, G. C. A new neurobehavioral model of autism in mice: pre- and postnatal exposure to sodium valproate / G. C. Wagner, K. R. Reuhl, M. Cheh, P. McRae, A. K. Halladay. // *Journal of Autism and Developmental Disorders*. – 2006. – V. 36, № 6. – P. 779-793.
321. Wang, L. Modulation of social deficits and repetitive behaviors in a mouse model of autism: the role of the nicotinic cholinergic system / L. Wang, L. E. Almeida, N. A. Spornick, N. Kenyon, S. Kamimura, A. Khaibullina, M. Nouraie, Z. M. Quezado // *Psychopharmacology (Berlin)*. – 2015. – V. 232, №23. – P. 4303-4316.
322. Wang, X. Altered mGluR5-Homer scaffolds and corticostriatal connectivity in a Shank3 complete knockout model of autism / X. Wang, A. L. Bey, B. M. Katz, A. Badea, N. Kim, L. K. David, L. J. Duffney, S. Kumar, S. D. Mague, S. W. Hulbert, N. Dutta, V. Hayrapetyan, C. Yu, E. Gaidis, S. Zhao, J. D. Ding, Q. Xu, L. Chung, R. M. Rodriguiz, F. Wang, R. J. Weinberg, W. C. Wetsel, K. Dzirasa, H. Yin, Y. H. Jiang // *Nature Communications*. – 2016. – V. 7. – P. 11459.
323. Welsh, J. P. Is autism due to brain desynchronization? / J. P. Welsh, E. S. Ahn, D. G. Placantonakis // *International Journal of Developmental Neuroscience*. – 2005. – V. 23. – P. 253-263.
324. Weruaga, E. A sexually dimorphic group of atypical glomeruli in the mouse olfactory bulb / E. Weruaga, J. G. Briñón, A. Porteros, R. Arévalo, J. Aijón, J. R. Alonso // *Chemical senses*. – 2001. – V. 26, №1. – P. 7-15.
325. Wesson, D. W. Sniffing behavior communicates social hierarchy / D. W. Wesson // *Current Biology*. – 2013. – V. 23. – P. 575-580.
326. Westmark, C. J. Fragile X and APP: a Decade in Review, a Vision for the Future / C. J. Westmark // *Molecular Neurobiology*. – 2019. – V. 56, №6. – P. 3904-3921.

327. Williamson, E. Medical Therapies for Children With Autism Spectrum Disorder—An Update / E. Williamson, N. A. Sathe, J. C. Andrews, S. Krishnaswami, M. L. McPheeters, C. Fennesbeck, K. Sanders, A. Weitlauf, Z. Warren. – Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US). –2017 – 713 p.
328. Wu, W. L. The interaction between maternal immune activation and alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor in regulating behaviors in the offspring / W. L. Wu, C. E. Adams, K. E. Stevens, K. H. Chow, R. Freedman, P. H. Patterson // *Brain, Behavior, and Immunity*. – 2015. – V. 46. – P. 192-202.
329. Yang, E. J. Early Behavioral Abnormalities and Perinatal Alterations of PTEN/AKT Pathway in Valproic Acid Autism Model Mice / E. J. Yang, S. Ahn, K. Lee, U. Mahmood, H. S. Kim // *PLoS One*. – 2016. – V. 11, №4. – P. e0153298.
330. Yang, M. Simple behavioral assessment of mouse olfaction / M. Yang, J. N. Crawley // *Current protocols in neuroscience*. – 2009. – Ch. 8, U.24.
331. Yarkova, M. A. Temporal characteristics of stress-induced decrease in benzodiazepine reception in C57BL/6 and BALB/c mice / M. A. Yarkova, S. B. Seredenin // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2014. – V. 157, №6. – P. 733-735.
332. Yoshida, K. Tardive dyskinesia in relation to estimated dopamine D2 receptor occupancy in patients with schizophrenia: analysis of the CATIE data / K. Yoshida, R. R. Bies, T. Suzuki, G. Remington, B. G. Pollock, Y. Mizuno, M. Mimura, H. Uchida // *Schizophrenia Research*. – 2014. – V. 153, №1-3. – P. 184-188.
333. Yoshizaki, K. Impaired social facilitation on voluntary exercise of BALB/cCrSlc mice, a proposed as an autism spectrum disorder model / K. Yoshizaki, M. Asai, A. Nakayama // *Neuroscience Research*. – 2021. – V. 163. – P. 63-67.
334. Yu, Y. Pharmacotherapy of restricted/repetitive behavior in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis / Y. Yu, A. Chaulagain, S. A. Pedersen, S. Lydersen, B. L. Leventhal, P. Szatmari, B. Aleksic, N. Ozaki, N. Skokauskas // *BMC Psychiatry*. – 2020. – V. 20, №1. – P. 121.
335. Zenina, T. A. Neuroprotective Properties of Afobazol in Vitro / T. A. Zenina, I. V. Gavrish, D. S. Melkumyan, T. S. Seredenina, S. B. Seredenin // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2005. – V. 140, № 2. – P. 194-196.
336. Zhou, M. S. Meta-analysis: Pharmacologic Treatment of Restricted and Repetitive Behaviors in Autism Spectrum Disorders / M. S. Zhou, M. Nasir, L. C. Farhat, M. Kook, B. B. Artukoglu, M. H. Bloch // *The Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry's*. – 2021. – V. 60, №1. – P. 35-45.