



Особенности поведения крыс Вистар на моделях расстройств аутистического спектра, вызванных пренатальным или постнатальным введением вальпроата натрия

© Савинкова Е. В., Капица И. Г., Воронина Т. А.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Сложности диагностики и лечения расстройств аутистического спектра (РАС) обусловлены их неизвестной этиологией и патофизиологией. Изучение моделей РАС, вызванных воздействием вальпроата натрия (ВН), имеет важное значение для разработки эффективной фармакологической коррекции этого расстройства.

Цель. Целью исследования являлась оценка влияния пренатального и постнатального воздействия ВН на развитие аутичноподобного поведения у крыс линии Вистар для дальнейшего выбора целесообразного терапевтического воздействия.

Методы. Потомство крыс линии Вистар получали ВН на 12,5-й день пренатального развития или постнатально на 14-й день. Проводили оценку социального поведения, тревожности, рабочей памяти, оборонительного видового поведения, исследовательской и двигательной активности.

Результаты. Пренатальное воздействие ВН привело к снижению социального взаимодействия, повышению тревожности, нарушению видового оборонительного поведения и уменьшению двигательной активности у самцов крыс. У самок крыс с ВН, введенным пренатально, отмечались социальный дефицит, повышение тревожности и гиполокомоция, а также нарушения в когнитивной сфере, но не предпочтение к аверсивному запаху. При постнатальном воздействии ВН на самцов и самок крыс не наблюдалось существенных изменений в социальном взаимодействии и видовом оборонительном поведении, однако животные показали снижение двигательной активности. У самок, получавших ВН постнатально, отмечалось ухудшение рабочей памяти и снижение исследовательского поведения.

Заключение. Как пренатальное, так и постнатальное воздействие ВН вызывает нарушения поведения, сходные с РАС, и имеет гендерные особенности, что может определить направление фармакологической коррекции заболевания.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра; фетальный вальпроатный синдром; пренатальное воздействие вальпроата натрия; крысы линии Вистар; социальное взаимодействие; тревожность; аверсивный запах; когнитивные функции; исследовательское поведение; двигательная активность

Для цитирования:

Савинкова Е. В., Капица И. Г., Воронина Т. А. Особенности поведения крыс Вистар на моделях расстройств аутистического спектра, вызванных пренатальным или постнатальным введением вальпроата натрия. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2024;(2):34–42. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-2-34-42>. EDN: HLEVUO

Поступила: 06.05.2024. В доработанном виде: 20.05.2024. Принята к печати: 17.06.2024. Опубликовано: 30.06.2024.

Behavioral features of Wistar rats in models of autism spectrum disorders induced by prenatal or postnatal administration of sodium valproate

© Elena V. Savinkova, Inga G. Kapitsa, Tatiana A. Voronina

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. The complexity of diagnosing and treating autism spectrum disorders (ASD) is attributed to their unknown etiology and pathophysiology. The investigation of ASD models induced by sodium valproate (VPA) holds significant importance in the development of effective pharmacological interventions for this disorder.

Objective. The aim of the study was to assess the impact of prenatal and postnatal exposure to VPA on the development of autism-like behavior in Wistar rats for further selection of appropriate therapeutic interventions.

Methods. Offspring of Wistar rats were exposed to VPA on the 12.5th day of prenatal development or postnatally on the 14th day. Evaluation included assessment of social behavior, anxiety, working memory, species-typical defensive behavior, exploratory, and locomotor activity.

Results. Prenatal VPA exposure led to reduced social interaction, increased anxiety, disruption of species-typical defensive behavior, and decreased locomotor activity in male rats. Female rats prenatally exposed to VPA exhibited social deficits, increased anxiety, hypolocomotion, and cognitive impairments, albeit without displaying aversive odor preference. Postnatal VPA exposure in male and female rats did not significantly alter social interaction and species-typical defensive behavior; however, animals exhibited reduced locomotor activity. Postnatally VPA-exposed female rats demonstrated worsened working memory and decreased exploratory behavior.

Conclusion. Both prenatal and postnatal exposure to VPA elicits behavioral disturbances resembling ASD, with gender-specific nuances, which may guide the direction of pharmacological interventions for the disorder.

Keywords: autism spectrum disorders; fetal valproate syndrome; postnatal valproate; Wistar rats; social interaction; anxiety; aversive odor; cognitive functions; exploratory behavior; locomotor activity

For citations:

Savinkova EV, Kapitsa IG, Voronina TA. Behavioral features of Wistar rats in models of autism spectrum disorders induced by prenatal or postnatal administration of sodium valproate. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(2):34–42. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-2-34-42>. EDN: HLEVUO

Received: 06.05.2024. **Revision received:** 20.05.2024. **Accepted:** 17.06.2024. **Published:** 30.06.2024.

Введение / Introduction

Расстройства аутистического спектра (РАС) — нарушение нейроразвития, сопровождающееся дефицитом в сферах социализации и коммуникации, ограниченностью интересов и стереотипным поведением [1]. Диагностика и лечение РАС является сложной задачей, особенно в контексте высокой коморбидности с умственной отсталостью, эпилептиформными проявлениями, микроаномалиями, пороками развития [2], тревожными, депрессивными, обсессивно-компульсивными расстройствами, синдромом дефицита внимания и гиперактивности [3], а также с другими широко распространёнными поведенческими особенностями, такими как сенсорные и двигательные нарушения [4].

Этиология и патофизиология РАС неизвестны, однако все больше подтверждений находит важность роли как генетических, так и эпигенетических факторов, а также факторов окружающей среды в появлении клинического фенотипа заболевания. Среди внешних факторов, оказывающих влияние на формирование РАС, особое внимание привлекает вальпроат натрия (ВН) — препарат, широко используемый в медицине для лечения эпилепсии, биполярного аффективного расстройства, мигрени [5]. Приём ВН во время беременности тесно связан с возникновением пороков развития у плода [6]. Являясь ингибитором гистондеацетилаз и эпигенетическим модулятором, ВН обладает способностью модулировать активность генов, повреждать ДНК, нарушать энергетический обмен в митохондриях и способствовать развитию окислительного стресса. Являясь мощным тератогеном, ВН вызывает у плода нарушения, обозначенные как фетальный вальпроатный синдром (ФВС), который включает дефекты нервной трубки, задержку нервного развития, дисморфические признаки, сердечные аномалии, когнитивные дефекты и некоторые другие проявления РАС [7]. Тератогенный эффект вальпроатов обусловлен высокой степенью их диффундирования через плаценту, в результате чего их концентрация в крови плода в несколько раз превышает таковую в крови матери, что приводит к прямому воздействию на митохондрии, выражающемуся в нарушении клеточного метаболизма [8]. Показано, что вальпроаты влияют на экспрессию генов *NANOG*, *OCT4* и *PAX6*, участвующих в эмбриональном разви-

тии, и вызывают нарушение метилирования лизина 4 и 27 в H3 гистоне, что приводит к нарушению закрытия нервной трубки на 22–23-й день гестации и формированию врождённых пороков ЦНС [9, 10].

Воздействие ВН в первый триместр беременности может вызвать у плода нарушение электронной транспортной цепи и накопление свободных радикалов, что приводит к окислительному стрессу. Этот процесс сопровождается повреждением белков, липидов и ДНК и увеличивает вероятность повреждений и апоптоза клеток, что может вызвать врождённые дефекты, включая дефекты нервной трубки [11].

После прохождения эмбриональной фазы и органогенеза (второй триместр), в третьем триместре происходит интенсивное усиление синаптогенеза и уточнение нейронных связей в мозге плода. Негативное воздействие ВН в этот период связано с усилением тормозной нейротрансмиссии через воздействие на уровни гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и модуляцией потенциалзависимых ионных каналов [12], что приводит к дисбалансу тормозной и возбуждающей систем и нарушает нормальное развитие мозга плода [13].

Для моделирования РАС с применением ВН используется несколько схем. Одним из широко используемых приёмов является моделирование ФВС, который впервые был описан в 1984 г. *DiLiberti JH* при анализе особенностей фенотипа и психоневрологического развития 7 детей, матери которых принимали ВН для лечения эпилепсии на протяжении всей беременности [14]. Связь между внутриутробным воздействием ВН и развитием РАС побудила *Rodier PM* и его коллег изучить эффекты пренатального введения вальпроата в экспериментах на крысах [15]. Наиболее яркие нарушения РАС у крыс были выявлены при введении ВН на 12,5-й день гестации (E12,5), что соответствует первому триместру беременности человека [15–17]. В этот период у крыс происходит закрытие нервной трубки и формирование двигательных ядер ствола мозга [17, 18].

В раннем послеродовом периоде (P0–14) состояние развивающихся нейросенсорных систем грызунов примерно соответствует особенностям, связанным с развитием мозга человека в третьем триместре [4, 17]. 14-й день постнатального развития (P14) крыс определяется как критический с повышенной чувствительностью к нейротоксичности,

поскольку в этот период практически завершено формирование мозжечка, завершены процессы пролиферации и миграции, но дифференцировка и миграция гиппокампа и стриатума, а также синапто- и глиогенез продолжают, и воздействие ВН приводит к регрессу сформированных двигательных и когнитивных навыков [19, 20].

Целью исследования / The purpose of the study являлась оценка влияния пренатального и постнатального воздействия вальпроата натрия на развитие аутичноподобного поведения у крыс линии Вистар для дальнейшего выбора целесообразного терапевтического воздействия.

Материал и методы / Materials and methods

Работа проведена на потомстве крыс линии Вистар, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (Московская область). Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде при 12-часовом световом режиме в соответствии с ГОСТ 33215 и 33216. Эксперименты проводили в соответствии с положениями, представленными в «Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» (Приложение к Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 года №33) и одобрена этической комиссией (протокол № 01 от 18 января 2023 г.).

В работе использовали натриевую соль вальпроевой кислоты (вальпроат натрия, ВН) (Sigma-Aldrich, Индия) и физиологический раствор (натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9 %).

Моделирование РАС проводили, используя пренатальное введение на E12,5 ВН в дозе 600 мг/кг однократно внутрибрюшинно (в/б) [15] (модель ФВС) и постнатальное введение на P14 ВН в дозе 400 мг/кг однократно подкожно (п/к) [19]. Контрольным животным вводили физиологический раствор в эквивалентном объёме (0,2 мл на 100 г массы тела) и в том же режиме, что и группам, получавшим ВН. В работе использовали крыс обеих гендерных групп. Число животных в группе и возраст, при котором были проведены тесты, указаны ниже.

Двигательную и исследовательскую активность оценивали в установке «Открытое поле» (НПК «Открытая Наука», Россия), которая представляет собой арену диаметром 90 см с бортиком высотой 38 см и полом, расчерченным на 19 секторов и имеющим 13 отверстий («норки») по 4 см в диаметре. Животное помещали на периферию установки и регистрировали число посещённых секторов и заглядываний в норки в течение 5 мин.

Оперативную (рабочую) память у крыс оценивали в тесте «У-лабиринт», установка для которого

представляет собой лабиринт с тремя серыми непрозрачными пластиковыми рукавами (40 × 8 × 15 см), расположенными друг от друга под углом 120° и обозначаемыми как А, В, С (НПК «Открытая Наука», Россия). Животное помещали в центр лабиринта и регистрировали количество спонтанных последовательных посещений трёх рукавов (триплетов) и двигательную активность (общее количество посещённых рукавов) в течение 5 мин [21].

Оценку поведения крыс в ответ на предъявление аверсивного запаха оценивали в установке «У-лабиринт». В один из 3 рукавов лабиринта помещали чашку Петри с фильтровальной бумагой размером 1×1 см, смоченной 0,1 мл 1 % раствора мочи лисы (Minnesota Brand Red Fox Urine), а два других рукава (А и В) оставляли свободными. Животное сажали в центр лабиринта и в течение 5 мин регистрировали количество заходов в каждый рукав, а также число подходов к источнику запаха на расстояние менее 2 см и длительность контакта с ним. После каждого тестирования бумагу с запахом обновляли, а чашку Петри переставляли в другой рукав. По полученным результатам рассчитывали коэффициент предпочтения рукава с запахом по отношению:

$$K = C / (A + B + C) \times 100,$$

где С — число заходов в рукав с запахом; А и В — число заходов в рукава без запаха [22].

Социальное поведение крыс оценивали в «Трёх-камерном тесте», установка для которого представляет собой камеру с непрозрачными стенками длиной 60 см, шириной 25 см и высотой 30 см, поделённой прозрачными перегородками с дверцами на три равных отсека. Тестируемое животное сажали в центральный отсек установки на 10 мин, давая свободно исследовать его, затем животное блокировали в центральном отсеке, а в крайних размещали цилиндры со стенками из металлической сетки (11 см в высоту, 9 см в диаметре) в один из которых помещали «социальный объект» (СО) — незнакомую крысу того же пола и возраста, что и тестируемое животное, а второй цилиндр оставляли пустым (несоциальный объект). Далее в течение 10 мин оценивали начало движения тестируемого животного, латентное время заходов в отсеки, число заходов и продолжительность пребывания в них, длительность обследования объектов (подход на расстояние менее 2 см, обнюхивание и т. д.) [23].

Тестирование крыс, которым пренатально или постнатально вводили ВН проводили в максимально близкие возрастные периоды.

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, даль-

нейшую обработку данных проводили с помощью метода непараметрической статистики Манна–Уитни. Результаты представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего (Mean $\pm$ SEM) или в виде данных, выраженных в %. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты / Results

Пренатальное введение ВН не оказало влияния на поведение самцов и самок крыс на 36-й день постнатального развития (P36) в тесте «Открытое поле». Оценка влияния постнатального введения ВН на поведение крыс на P40 в тесте «Открытое поле» выявила снижение двигательной активности в сравнении с группой «Контроль», что выражалось в уменьшении числа посещённых секторов в 1,4 раза у самцов ($46,4 \pm 3,5$ vs $63,5 \pm 6,5$ ($p < 0,05$)), и в 1,3 раза — у самок ($43,1 \pm 4,9$ vs $57,6 \pm 5,2$ ($p = 0,075$)). Кроме того, у самок крыс, постнатально получавших ВН, отмечено снижение исследовательской активности в сравнении с показателями группы «Контроль», что выразилось в уменьшении в 1,7 раза числа заглядываний в норки ($6,6 \pm 0,8$ vs $11,4 \pm 1,9$ ($p < 0,05$)).

В тесте У-лабиринт самки крыс (P38), пренатально получившие ВН, демонстрировали нарушение рабочей памяти и снижение двигательной активности, что выразилось в уменьшении в 1,5 раза числа триплетов и в 1,3 раза числа визитов в рукава по сравнению с группой «Контроль» (рис. 1).

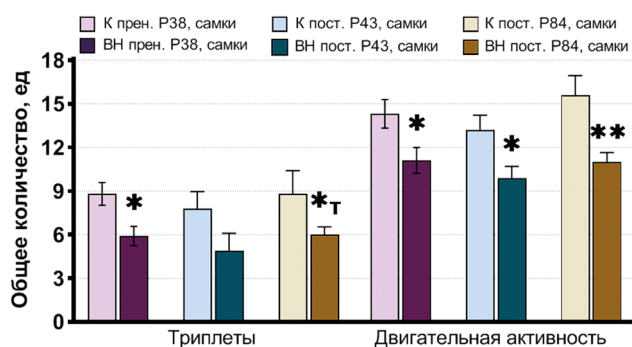


Рис. 1. Влияние пренатального и постнатального введения вальпроата натрия на поведение самок крыс Вистар в тесте «У-лабиринт»

Fig. 1. Effect of prenatal and postnatal administration of sodium valproate on the behavior of female Wistar rats in the "Y-maze" test

Примечания: *^T, *, ** — $p = 0,085$, $p < 0,05$, $p < 0,01$, соответственно, по сравнению с группой «Контроль»; К — контроль; ВН — вальпроат натрия; прен. — пренатальное введение на E12,5; пост. — постнатальное введение на P14

Notes: *^T, *, ** — $p = 0.085$, $p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively, compared to the "Control" group; К — Control; ВН — sodium valproate; прен. — prenatal administration on day E12,5; пост. — postnatal administration on day P14

Постнатальное введение ВН вызывало снижение в 1,5 раза числа триплетов у самок крыс на P43 по сравнению с группой «Контроль» (рис. 1), и это изменение достигало статистической значимости при тестировании на P84.

Самки крыс, получавших ВН на P14, аналогично группе самок с пренатальным введением ВН, демонстрировали уменьшение в 1,3 и 1,4 раз двигательной активности на P43 и P84, соответственно, по сравнению с группой «Контроль» (рис. 1).

Поведение самцов крыс, пренатально и постнатально получавших ВН, в тесте «У-лабиринт» не отличалось от поведения животных контрольных групп.

У самцов и самок крыс Вистар (P40), пренатально получавших ВН, по сравнению с показателями соответствующих контрольных групп, отмечался дефицит социального взаимодействия, который проявлялся в снижении длительности контакта с СО в 5,8 и 2,7 раз, соответственно, и в увеличении в 3,1 раза латентного времени захода в отсек с СО у самцов крыс, а также рост уровня тревожности, который выражался в увеличении в 4,8 и 2,7 раз латентного времени начала движения, в 2,3 и 1,8 раз длительности нахождения в стартовом отсеке, соответственно (рис. 2).

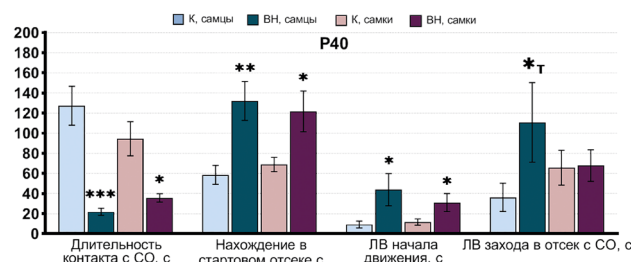


Рис. 2. Влияние пренатального введения вальпроата натрия на поведение крыс Вистар в тесте «Социальное взаимодействие»

Fig. 2. Effect of prenatal administration of sodium valproate on the behavior of Wistar rats in the "Social interaction" test

Примечания: *^T, *, **, *** — $p < 0,09$, $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, соответственно, по сравнению с группой «Контроль»; ВН — вальпроат натрия; К — контроль; СО — социальный объект; ЛВ — латентное время.

Notes: *^T, *, **, *** — $p < 0.09$, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$, respectively, compared to the "Control" group; ВН — sodium valproate; К — Control; СО — social object; ЛВ — latency period

Постнатальное введение ВН не выявило значимых различий в тесте «Социальное взаимодействие» у самцов и самок Вистар (табл. 1).

Оценка поведения самцов крыс Вистар в установке «У-лабиринт» в ответ на предъявление запаха хищника выявила разнонаправленные реакции животных в зависимости от пренатального или постнатального введения ВН. Так, самцы крыс, получавшие ВН пренатально, демонстрировали повышение в 1,3 раза предпочтения рукава с аверсивным запахом (%), тогда как у крыс, которым ВН вводили на P14,

отмечалось снижение в 1,4 раза этого показателя, что подкреплялось уменьшением в 1,8 раза числа заходов в этот рукав ($p < 0,05$), по сравнению с соответствующей контрольной группой. Однако в обеих моделях у самцов крыс отмечалось снижение двигательной активности по сравнению с группой «Контроль» (табл. 2).

У самок крыс, пренатально получавших ВН, значимых отличий по сравнению с контрольной группой по реакции на аверсивный стимул не наблюдалось (табл. 3).

Самки крыс, которым ВН вводили пренатально, аналогично самцам, избегали аверсивный запах, что выразилось в снижении в 1,9 и 2,5 раз количества

Таблица 1

Влияние постнатального введения ВН на поведение крыс Вистар в тесте «Социальное взаимодействие» на P51 (самцы) и P57 (самки)

Table 1

Effect of postnatal administration of sodium valproate on the behavior of Wistar rats in the “Social interaction” test on P51 (males) and P57 (females)

Показатели / Группы, число крыс в группе (n)	«Контроль», самцы, n = 8	«ВН», самцы, n = 11	«Контроль», самки, n = 8	«ВН», самки, n = 7
Длительность контакта с СО, с	59,9 ± 15,5	43,9 ± 11,6	104,7 ± 30,5	111,7 ± 37,8
Длительность нахождения в стартовом отсеке, с	224,3 ± 37,4	285,4 ± 68,2	232,0 ± 62,7	195,1 ± 64,6
ЛВ начала движения, с	3,1 ± 0,6	4,6 ± 1,3	42,0 ± 40,5	4,5 ± 2,6
ЛВ подхода к СО, с	9,2 ± 2,7	25,5 ± 11,6	85,4 ± 76,3	52,9 ± 42,1

Примечания: данные представлены в виде среднего и стандартных ошибок среднего; СО — социальный объект; ЛВ — латентное время.
Notes: the data are presented in the form of an average and a standard error; СО — social object; ЛВ — latency period.

Таблица 2

Влияние пренатального и постнатального введения ВН на поведение самцов крыс Вистар в тесте «У-лабиринт с аверсивным запахом» на P82 и P86, соответственно

Table 2

Effect of prenatal and postnatal administration of sodium valproate on the behavior of male Wistar rats in the “Y-maze with smell aversion” test on P82 and P86, respectively

Показатели / Группы, число крыс в группе (n)	ВН пренатально, самцы		ВН постнатально, самцы	
	«Контроль», n = 16	«ВН», n = 21	«Контроль», n = 21	«ВН», n = 20
Предпочтение рукава с запахом, %	28,9 ± 2,2	38,2 ± 1,6*	35,4 ± 3,4	26,0 ± 4,3
Заходы в рукав с запахом, ед.	2,5 ± 0,3	2,2 ± 0,4	3,9 ± 0,4	2,2 ± 0,4*
Двигательная активность, ед.	8,5 ± 0,8	6,0 ± 0,8*	11,3 ± 1,1	7,6 ± 1,0*

Примечания: данные представлены в виде среднего и стандартных ошибок среднего; * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; ВН — вальпроат натрия.
Notes: the data are presented in the form of an average and a standard error; * — $p < 0.05$ compared to the “Control” group; ВН — sodium valproate.

Таблица 3

Влияние пренатального и постнатального введения ВН на поведение самок крыс Вистар в тесте «У-лабиринт с аверсивным запахом» на P82 и P86, соответственно

Table 3

Effect of prenatal and postnatal administration of sodium valproate on the behavior of female Wistar rats in the “Y-maze with smell aversion” test on P82 and P86, respectively

Показатели / Группы, число крыс в группе (n)	ВН пренатально, самки		ВН постнатально, самки	
	«Контроль», n = 8	«ВН», n = 7	«Контроль», n = 21	«ВН», n = 20
Предпочтение рукава с запахом, %	32,5 ± 2,6	34,5 ± 2,2	32,3 ± 3,3	32,1 ± 3,4
Заходы в рукав с запахом, ед.	4,3 ± 0,7	4,0 ± 0,4	3,6 ± 0,2	3,4 ± 0,4
Подходы к источнику запаха, ед.	3,9 ± 0,5	5,0 ± 0,8	6,2 ± 1,0	3,3 ± 0,7*
Длительность контакта с источником запаха, с	12,7 ± 3,7	19,3 ± 3,6	50,6 ± 13,4	20,6 ± 5,8*
Двигательная активность, ед.	12,9 ± 1,4	11,4 ± 0,8	11,4 ± 0,9	10,9 ± 0,8

Примечания: Данные представлены в виде среднего и стандартных ошибок среднего; * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; ВН — вальпроат натрия.
Notes: the data are presented in the form of an average and a standard error; * — $p < 0.05$ compared to the “Control” group; ВН — sodium valproate.

подходов к его источнику и длительности контакта с ним, соответственно, по сравнению с группой «Контроль» (см. табл. 3).

Обсуждение / Discussion

Проведено изучение влияния пренатально-го (на E12,5) введения ВН в дозе 600 мг/кг в/б и постнатального (на P14) в дозе 400 мг/кг п/к, моделирующего аутичноподобное поведение у крыс линии Вистар. Показано, что как пренатальное, так и постнатальное введение ВН крысам Вистар в критические периоды развития приводит к нарушениям поведения, имеющими сходство с симптомами характерными для РАС. Наряду с этим, выявлены гендерные различия формирования РАС. Так, у самцов крыс Вистар пренатальное воздействие ВН вызывало снижение социального взаимодействия, повышение тревожности и нарушение видового оборонительного поведения, связанного с избеганием авersive запаха хищника, и снижение двигательной активности.

Самки крыс, в отличие от самцов, в условиях модели РАС, вызванной пренатальным введением ВН, не предпочитали авersive запах, а проявляли ярко выраженную реакцию его избегания в тесте У-образного лабиринта, но демонстрировали сходный с самцами социальный дефицит, повышение тревожности, гиполокомоцию и нарушения в когнитивной сфере.

Сходные проявления РАС (снижение социального взаимодействия и двигательной активности, повышение тревожности, когнитивный дефицит) у самцов крыс, пренатально получавших ВН, были получены и другими авторами [5, 24–26].

В эксперименте с постнатальным (P14) введением ВН самцам и самкам крыс Вистар нарушений социального взаимодействия и видового оборонительного поведения, в основе которого лежало восприятие обонятельных стимулов, не наблюдалось, однако у животных отмечалось снижение двигательной активности. Кроме того, у самок крыс, получавших ВН на P14, отмечалось ухудшение рабочей памяти и снижение исследовательского поведения.

Показано, что воздействие ВН в раннем постнатальном периоде с P6 по P12 (150 мг/кг) вызывало у крыс Лонг Эванс нарушения мелкой моторики и сенсорно-моторной системы, что часто (до 70 %) наблюдается и у людей с РАС (до 70 %) [4].

Посмертные нейровизуализационные исследования у пациентов с РАС и на животных моделях выявили нейроанатомические изменения в различных областях мозга, особенно в префронтальной коре, отвечающей за социальное функционирование, в гиппокампе, играющим ключевую роль в осуществлении эмоциональной регуляции, включая тревогу и депрессию, ориентировочных рефлексов, в обуче-

нии и обработке новой информации и мозжечке — т. е. в областях мозга, связанных с поведенческими аномалиями, наблюдаемыми при РАС [7, 27]. У пациентов с аутизмом наблюдаются многочисленные изменения в мозжечке, включающие потерю клеток Пуркинью, усиление окислительного стресса и дисфункцию ГАМКергической системы, которые могут быть ответственны за нарушения двигательных (моторика, походка, поза) и сенсорных функций, а также функций памяти и речи [24, 28].

Мозжечок играет важную роль и в регуляции социального поведения, посредством влияния на отвечающую за этот аспект, а также когнитивные функции, префронтальную кору и эмоции [28]. Кроме того, посредством реципроктной связи между миндалевидным телом, префронтальной корой и мозжечком, последний принимает участие в регуляции тревоги, модулируя реактивность у людей, уязвимых к тревоге [29]. Постнатальный период с P6–P28 у крыс характеризуется интенсивной клеточной пролиферацией и синаптогенезом в различных структурах головного мозга, участвующих в том числе, в процессах обучения и памяти [30].

Показано, что пренатальное воздействие ВН у самцов крыс Вистар вызывает радикальные патологические изменения в ультраструктурах синапсов с нарушением регуляции ключевых пре- и постсинаптических структурных и функциональных белков, что может вызывать нарушения клеточной нейротрансмиссии и представлять собой основное повреждение, ответственное за аутичноподобное поведение у потомства [25].

В патофизиологии РАС одну из фундаментальных ролей играет нарушение глутаматергической нейротрансмиссии [31]. Пренатальное воздействие ВН усиливает возбуждающую глутаматергическую и нарушает тормозную ГАМКергическую синаптическую передачу с преувеличенным апоптозом гиппокампа [24]. Захват глутамата из синаптического пространства у грызунов осуществляется астроцитами с помощью переносчика глутамата 1 — GLT-1, экспрессия которого при РАС нарушается, что сопровождается чрезмерной синаптической возбудимостью с появлением гиперактивности нейронов, патологического повторяющегося поведения и ослаблением когнитивных функций [32].

Основным активатором экспрессии гена астроцитов Glt-1 является фосфорилированный белок, цАМФ-зависимый клеточный фактор транскрипции p-CREB, который играет решающую роль в формировании дендритов и росте шипиков, а также в пластичности нейронов и формировании долговременной памяти, регулирующий транскрипцию определённых генов, необходимых для выживания нейронов, в том числе, таких как нейротрофический фактор головного мозга (BDNF). Отмечались более низкие уровни CREB у аутистов с увеличением тя-

жести симптомов [33]. Показано, что BDNF стимулирует свой рецептор — киназу тропомиозинового рецептора В (TrkB), что приводит к активации регулируемой внеклеточными сигналами киназы ERK с последующим фосфорилированием/активацией CREB, что может представлять собой петлю положительной обратной связи [32]. BDNF является сигнальной молекулой, которая экспрессируется в головном мозге, причём этот процесс регионально избирателен и динамически меняется в процессе развития [34]. Функции BDNF включают регуляцию нейрогенеза, гликогенеза и синаптогенеза, а также нейротрофику и контроль коротко- и долгосрочных синаптических взаимодействий, которые влияют на механизмы памяти и познания [35].

Нарушение экспрессии BDNF обнаруживается у пациентов с РАС [36]. Показано, что BDNF снижает уровни гиперфосфорилированного тау-белка, который может играть ключевую роль в когнитивной дисфункции у аутистов, а при пренатальном воздействии ВН отмечалось увеличение внутринейронных отложений гиперфосфорилированного белка «тау», что вызывало нарушение синаптической передачи и повреждение нейронов [32]. Показано, что ВН может влиять на экспрессию ключевых генов, которые поддерживают развитие нейронов, в том числе гена *BDNF* [37, 38]. У крыс, получавших высокие дозы ВН (600 мг/кг) во время пренатального

периода (E8), наблюдалась повышенная экспрессия *BDNF* в нервной трубке [39]. Аналогично, в опытах *in vitro* в культуре корковых нейронов постнатальных крыс выявлено повышение уровней мРНК *bdnf* после применения вальпроата [38]. Было обнаружено, что у крыс, получавших ВН в постнатальный период, наблюдалось снижение экспрессии гена *bdnf* уже в течение 24 часов [37, 40]. Выявлено уменьшение поведенческих нарушений на фоне приёма арипипразола у детей-аутистов с лёгким и умеренным когнитивным дефицитом при увеличении содержания BDNF и p-CREB в нейрональных клетках HT22, а также ослабление поведенческих изменений и окислительного стресса у грызунов на моделях РАС, улучшение речи, памяти, социального взаимодействия, уменьшение раздражительности, стереотипного поведения и гиперактивности у детей-аутистов и усиления передачи сигналов CREB/BDNF у крыс, подвергающихся хроническому стрессу [32].

Таким образом, как пренатальное, так и постнатальное введение ВН крысам Вистар в критические периоды развития приводит к нарушениям поведения, имеющими сходство с РАС при наличии ряда особенностей, в том числе гендерных, которые могут способствовать лучшему пониманию патофизиологии заболевания и определять направление фармакологической коррекции.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Финансирование

Работа выполнена без спонсорской поддержки.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Authors' participation

All authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication.

Funding

The work was carried out without sponsorship.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Савинкова Елена Владимировна

Автор, ответственный за переписку

аспирант, м. н. с. лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейropsychopharmacology
ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: savinkova_ev@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-7876-5977>

Elena V. Savinkova

Corresponding author

Postgraduate student, Junior Researcher at the Laboratory of Pharmacology of Mental Diseases of the Department of Neuropsychopharmacology, Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: savinkova_ev@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-7876-5977>

Капица Инга Геннадиевна

к. б. н., в. н. с., начальник отдела интеллектуальной собственности ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4487-0991>

Inga G. Kapitsa

PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Head of the Intellectual Property Department, Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4487-0991>

Воронина Татьяна Александровна

д. м. н., профессор, г. н. с., руководитель отдела нейropsychофармакологии, заведующий лабораторией фармакологии психических заболеваний ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>

Tatiana A. Voronina

PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, Chief Scientific Officer, Head of the Department of Neuropsychopharmacology, Head of the Laboratory of Pharmacology of Mental Diseases, Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>

Список литературы / References

- Rogge N, Janssen J. The economic costs of autism spectrum disorder: A literature review. *J Autism Dev Disord*. 2019;49(7):2873-2900. doi: 10.1007/s10803-019-04014-z.
- Levy SE, Mandell DS, Schultz RT. Autism. *Lancet Lond Engl*. 2020;374(9701):1627-1638. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61376-3.
- Hossain MM, Khan N, Sultana A, et al. Prevalence of comorbid psychiatric disorders among people with autism spectrum disorder: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Psychiatry Res*. 2020;287:112922. doi: 10.1016/j.psychres.2020.112922.
- Reynolds S, Millette A, Devine DP. Sensory and motor characterization in the postnatal valproate rat model of autism. *Dev Neurosci*. 2012;34(2-3):258-267. doi: 10.1159/000336646.
- Mirza R, Sharma B. Benefits of Fenofibrate in prenatal valproic acid-induced autism spectrum disorder related phenotype in rats. *Brain Res Bull*. 2019;147:36-46. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.02.003.
- Nucera B, Brigo F, Trinka E, Kalss G. Treatment and care of women with epilepsy before, during, and after pregnancy: a practical guide. *Ther Adv Neurol Disord*. 2022; 15:17562864221101687. doi: 10.1177/17562864221101687.
- Roullet FI, Lai JKY, Foster JA. In utero exposure to valproic acid and autism--a current review of clinical and animal studies. *Neurotoxicol Teratol*. 2013;36:47-56. doi: 10.1016/j.ntt.2013.01.004.
- Kini U. Fetal valproate syndrome: A review. *Paediatr Perinat Drug Ther*. 2006;7:123-130. doi: 10.1185/146300906X112908.
- Balmer NV, Weng MK, Zimmer B, et al. Epigenetic changes and disturbed neural development in a human embryonic stem cell-based model relating to the fetal valproate syndrome. *Hum Mol Genet*. 2012;21(18):4104-4114. doi: 10.1093/hmg/dds239.
- Vasilyeva TA, Voskresenskaya AA, Pozdeyeva R, et al. Pax6 gene characteristic and causative role of pax6 mutations in inherited eye pathologies. *Russian Journal of Genetics*. 2018;54(9):995-1002. doi: 10.1134/S1022795418090156.
- Дмитренко Д.В., Шнайдер Н.А., Строчкая И.Г. и др. Механизмы вальпроат-индуцированного тератогенеза. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017;(спецвыпуск 1):89-96. [Dmitrenko DV, Shneider NA, Strotskaya IG, et al. Mechanisms of valproate-induced teratogenesis. *Neurologiya, Neiropsikhiatriya, Psikosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017; (Special Issue 1):89-96. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2017-1S-89-96.
- Rahman M, Awosika AO, Nguyen H. Valproic acid. In: *StatPearls*. 2023 [cited 2023 Oct 12]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559112/>.
- Pohl-Guimaraes F, Krahe TE, Medina AE. Early valproic acid exposure alters functional organization in the primary visual cortex. *Exp Neurol*. 2011;228(1):138-148. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.12.025.
- DiLiberti JH, Farndon PA, Dennis NR, Curry CJ. The fetal valproate syndrome. *Am J Med Genet*. 1984 Nov;19(3):473-81. doi: 10.1002/ajmg.1320190308.
- Rodier PM, Ingram JL, Tisdale B, et al. Embryological origin for autism: developmental anomalies of the cranial nerve motor nuclei. *J Comp Neurol*. 1996 Jun 24;370(2):247-61. doi: 10.1002/(SICI)1096-9861(19960624)370:2<247::AID-CNE8>3.0.CO;2-2.
- Clancy B, Finlay BL, Darlington RB, Anand K. Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology*. 2007;28(5):10.1016/j.neuro.2007.01.014. doi: 10.1016/j.neuro.2007.01.014.
- Fereshteyan K, Chavushyan V, Danielyan M, Yenkovyan K. Assessment of behavioral, morphological and electrophysiological changes in prenatal and postnatal valproate induced rat models of autism spectrum disorder. *Sci Rep*. 2021 Dec 6;11(1):23471. doi: 10.1038/s41598-021-02994-6.
- Kim KC, Kim P, Go HS, et al. The critical period of valproate exposure to induce autistic symptoms in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Lett*. 2011;201(2):137-142. doi: 10.1016/j.toxlet.2010.12.018.
- Oguchi-Katayama A, Monma A, Sekino Y, et al. Comparative gene expression analysis of the amygdala in autistic rat models produced by pre- and post-natal exposures to valproic acid. *J Toxicol Sci*. 2013;38(3):391-402. doi: 10.2131/jts.38.391.
- Wagner GC, Reuhl KR, Cheh M, et al. A new neurobehavioral model of autism in mice: Pre- and postnatal exposure to sodium valproate. *J Autism Dev Disord*. 2006;36(6):779-793. doi: 10.1007/s10803-006-0117-y.
- Yusuf S, Adelaiye A, Abdulkarim A. Effect of *Ziziphus mauritiana* (L.) seed extracts on spatial recognition memory of rats as measured by the Y-maze test. *J Nat Prod*. 2009;2.
- Hacquemand R, Choffat N, Jacquot L, Brand G. Comparison between low doses of TMT and cat odor exposure in anxiety- and fear-related behaviors in mice. *Behav Brain Res*. 2013;238:227-31. doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.014.
- Kaidanovich-Beilin O, Lipina T, Vukobradovic I, et al. Assessment of social interaction behaviors. *J Vis Exp JoVE*. 2011;(48):2473. doi: 10.3791/2473.
- Elnahas EM, Abuelezz SA, Mohamad MI, et al. Validation of prenatal versus postnatal valproic acid rat models of autism: A behavioral and neurobiological study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2021;108:110185. doi: 10.1016/j.pnpbp.2020.110185.
- Gassowska-Dobrowolska M, Cieřlik M, Czapski GA, et al. Prenatal exposure to valproic acid affects microglia and synaptic ultrastructure in a brain-region-specific manner in young-adult male rats: relevance to autism spectrum disorders. *Int J Mol Sci*. 2020;21(10):3576. doi: 10.3390/ijms21103576.
- Mohammadi S, Asadi-Shekaari M, Basiri M, et al. Improvement of autistic-like behaviors in adult rats prenatally exposed to valproic acid through early suppression of NMDA receptor function. *Psychopharmacology (Berl)*. 2020;237(1):199-208. doi: 10.1007/s00213-019-05357-2.

27. Varghese M, Keshav N, Jacot-Descombes S, et al. Autism spectrum disorder: Neuropathology and animal models. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2017;134(4):537-566. doi: 10.1007/s00401-017-1736-4.
28. Morakotsriwan N, Wattanathorn J, Kirsattayakul W, Chaisiwamongkol K. Autistic-like behaviors, oxidative stress status, and histopathological changes in cerebellum of valproic acid rat model of autism are improved by the combined extract of purple rice and silkworm pupae. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3206561. doi: 10.1155/2016/3206561.
29. Olexová L, Štefánek P, Kršková L. Increased anxiety-like behaviour and altered GABAergic system in the amygdala and cerebellum of VPA rats — An animal model of autism. *Neurosci Lett*. 2016;629:9-14. doi: 10.1016/j.neulet.2016.06.035.
30. Brusque AM, Mello CF, Buchanan DN, et al. Effect of chemically induced propionic acidemia on neurobehavioral development of rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1999;64(3):529-534. doi: 10.1016/s0091-3057(99)00127-6.
31. Montanari M, Martella G, Bonsi P, Meringolo M. Autism spectrum disorder: Focus on glutamatergic neurotransmission. *Int J Mol Sci*. 2022;23(7):3861. doi: 10.3390/ijms23073861.
32. Zohny SM, Habib MZ, Mohamad MI, et al. Memantine/Aripiprazole Combination Alleviates Cognitive Dysfunction in Valproic Acid Rat Model of Autism: Hippocampal CREB/BDNF Signaling and Glutamate Homeostasis. *Neurotherapeutics*. 2023 Mar;20(2):464-483. doi: 10.1007/s13311-023-01360-w.
33. Russo A, Albert M, Judith B. Decreased phosphorylated CREB and AKT in individuals with autism normalized after zinc therapy. *Acad J Pediatr Neonatol*. 2017;5(3):1-4. doi: 10.19080/AJPN.2017.05.555721.
34. Baquet ZC, Gorski JA, Jones KR. Early striatal dendrite deficits followed by neuron loss with advanced age in the absence of anterograde cortical brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosci*. 2004 Apr 28;24(17):4250-8. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3920-03.2004.
35. Barbosa AG, Pratesi R, Paz GSC, et al. Assessment of BDNF serum levels as a diagnostic marker in children with autism spectrum disorder. *Sci Rep*. 2020 Oct 15;10(1):17348. doi: 10.1038/s41598-020-74239-x.
36. Spratt EG, Granholm AC, Carpenter LA, et al. Pilot Study and Review: Physiological Differences in BDNF, a Potential Biomarker in Males and Females with Autistic Disorder. *Int Neuropsychiatr Dis J*. 2015;3(1):19-26. doi: 10.9734/INDJ/2015/12118.
37. Bittigau P, Siffringer M, Ikonomidou C. Antiepileptic drugs and apoptosis in the developing brain. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;993:103-14; discussion 123-4. doi: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07517.x.
38. Fukuchi M, Nii T, Ishimaru N, et al. Valproic acid induces up- or down-regulation of gene expression responsible for the neuronal excitation and inhibition in rat cortical neurons through its epigenetic actions. *Neurosci Res*. 2009;65(1):35-43. doi: 10.1016/j.neures.2009.05.002.
39. Bennett GD, Wlodarczyk B, Calvin JA, et al. Valproic acid-induced alterations in growth and neurotrophic factor gene expression in murine embryos [corrected]. *Reprod Toxicol Elmsford N*. 2000;14(1):1-11. doi: 10.1016/s0890-6238(99)00064-7.
40. Shi XY, Wang JW, Cui H, et al. Effects of antiepileptic drugs on mRNA levels of BDNF and NT-3 and cell neogenesis in the developing rat brain. *Brain Dev*. 2010;32(3):229-235. doi: 10.1016/j.braindev.2009.03.012.