

УДК 616-092

## Влияние трифтазина на поведение молодых взрослых крыс с фетальным вальпроатным синдромом

Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А., Калинина А.П.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

**Целью** данной работы было изучение особенностей поведения самцов молодых взрослых крыс линии Вистар с фетальным вальпроатным синдромом на 56–57-й дни их постнатального развития (P) и оценка влияния трифтазина на проявление симптомов расстройств аутистического спектра (РАС) на данной экспериментальной модели. **Методы.** Для экспериментального моделирования симптомов расстройств аутистического спектра использовали фетальный вальпроатный синдром, который вызывали однократным внутривентральным введением вальпроовой кислоты в дозе 500 мг/кг самкам крыс линии Вистар на 13 день гестации. Полученные в ходе данных манипуляций самцы ежедневно с 30-го до 55-го дня жизни получали трифтазин в дозе 0,35 мг/кг или воду для инъекций (активный контроль). Проводили оценку поведения животных в тестах «Социальное взаимодействие», «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) и «Y-образный лабиринт» с предъявлением аверсивного запаха. **Результаты.** Нарушенный поведенческий паттерн, зарегистрированный у подростков крыс с фетальным вальпроатным синдромом на 35–36 дни постнатального развития («mid adolescence»), сохранил свою значимость и на 56-й день их жизни, что проявлялось в выраженном социальном дефиците в тесте «Социальное взаимодействие», гиперактивном поведении при повторной посадке в установку (знакомые условия среды), в повышении уровня тревожности в ПКЛ, и в грубом нарушении врожденного оборонительного поведения в присутствии аверсивного страх-индуцированного запаха хищника в «Y-образном лабиринте». Трифтазин в дозе 0,35 мг/кг при его длительном введении был не эффективен или оказывал слабое влияние на нарушенные паттерны поведения крыс с экспериментальным РАС в возрасте 56 дней.

**Ключевые слова:** трифтазин, фетальный вальпроатный синдром, расстройства аутистического спектра, социальное взаимодействие, тревожность, возрастные изменения поведения крыс.

**Для цитирования:** Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А., Калинина А.П. Влияние трифтазина на поведение молодых взрослых крыс с фетальным вальпроатным синдромом. Патогенез. 2018; 16(2): 48–55  
DOI: 10.25557/2310-0435.2018.02.48-55

**Для корреспонденции:** Капица Инга Геннадиевна, e-mail: ingakap73@mail.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

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

**Поступила:** 12.01.2018

## Effect of triftazin on behavior of adult young rats with fetal valproate syndrome

Kapitsa I.G., Ivanova E.A., Voronina T.A., Kalinina A.P.

V.V.Zakusov Institute of Pharmacology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

**The goal of this study** was to investigate behavioral characteristics of male young Wistar rats with fetal valproate syndrome (FVS) on days P56-P57 of postnatal development (PD) and to evaluate the effect of triftazin on symptoms of autism spectrum disorders (ASD) in this experimental model. **Methods.** The model of fetal valproate syndrome was used to simulate symptoms of autism spectrum disorders. A single dose of valproate (500 mg/kg) was administered intraperitoneally to dams on gestational day 13. Male offspring received triftazin at 0.35 mg/kg or water for injection (active control group) daily from day P30 to day P55. Behavior of animals was evaluated in a three-chamber social interaction test, open field test, elevated-plus maze test (EPM), and Y-maze test with smell aversion. **Results.** A disturbed pattern of behavior was observed in male rats with FVS on days P35-P36 («mid adolescence») of postnatal development and remained on day P56. This pattern was evident as a pronounced social deficit in the three-chamber social interaction test, hyperactive behavior in the second day trial of the open field test (acquainted environmental conditions), increased anxiety in the EPM test, and a severe disorder of congenital defensive behavior in the Y-maze test with an aversive fear-induced predator smell. Prolonged administration of Triftazin 0.35 mg/kg has no or a weak effect on the disturbed behavior patterns of male rats with experimental ASD at age of P56.

**Key words:** triftazin, fetal valproate syndrome, autism spectrum disorders, social interaction, anxiety.

**For citation:** Kapitsa I.G., Ivanova E.A., Voronina T.A., Kalinina A.P. Effect of triftazin on behavior of adult young rats with fetal valproate syndrome]. Patogenez [Pathogenesis]. 2018; 16(2): 48–55 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.02.48-55

*For correspondence: Kapitsa Inga Gennadievna, e-mail: ingakap73@mail.ru*  
*Funding. The study had no sponsorship.*  
*Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.*  
*Received: 12.01.2018*

## Введение

Расстройства аутистического спектра (РАС, англ.: ASD — autism spectrum disorders) — группа состояний, связанных с глубинными расстройствами развития нервной системы, которые определяются функциональными ограничениями в трех областях: в способности инициировать и поддерживать социальное взаимодействие в коммуникативном поведении (вербальное и невербальное общение), в области собственных интересов, и появлением ряда стереотипных типов поведения, фобий, немотивированных приступов ярости, агрессии и самоповреждений. Заболевание манифестирует на 3-м году жизни, хотя дефицит социальной, коммуникативной и игровой активности наблюдается у детей в возрасте от 6 до 12 месяцев [1]. Различают ранний детский аутизм (в возрасте от 2,5 лет), подростковый аутизм, и взрослый аутизм, где каждый возрастной период сопровождается своими особенностями.

Характерными чертами заболевания для подросткового возраста являются ярко выраженное одиночество, замкнутость, агрессивность и ритуальные действия. Подростковый период в норме ассоциируется с высоким уровнем взаимодействия и длительным временем общения со сверстниками, повышенным уровнем социальной мотивации и высокой частотой стрессовых ситуаций, более выраженными, чем в любые другие возрастные периоды [2, 3]. У людей подростковый период проходит преимущественно в течение второго десятилетия жизни и характеризуется выраженными поведенческими, физиологическими, гормональными и нервными изменениями. У крыс многие из этих изменений проявляются между постнатальными днями (P) P28 и P42 [4], хотя некоторые из них могут продолжаться у самцов до P55 [2].

Проявления РАС у взрослых пациентов зависят от выраженности болезни и степени ее тяжести. Характерными специфическими признаками являются игнорирование социальных норм и правил, затруднения в общении, монотонная, лишённая эмоций речь, маленький словарный запас, бедная мимика, отсутствие жестикуляции, любовь к однообразию, рутинности, сильные переживания из-за любых перемен, аутоагрессия, невозможность адекватной оценки собственного состояния, отсутствие сострадания.

Ранее [5] на модели фетального вальпроатного синдрома (ФВС), модулирующего симптомокомплекс, характерный для РАС, была проведена оценка социального взаимодействия, тревожности, способности к обучению и памяти у подростков (P36 — «mid adolescence») самцов крыс линии Вистар и корректирующего влияния на данной экспериментальной модели трифтазина — часто назначаемого нейролептика фенотиазинового ряда, для которого показана способность повышать активность больных, восстанавливать мотивацию, интерес к своему состоянию и окружающему, увеличивать моторную активность, ослаблять речевую обедненность у детей с РАС.

Показано, что пренатальное введение на 13-й день гестации высокой дозы вальпроевой кислоты (ВПК) вызывает выраженные отклонения в поведении крысят на P36 день их постнатального развития и негативно воздейству-

ет на формирование их внутривидовых реакций, что выражается в снижении социальных контактов, предпочтении несоциального объекта социальному, а также в нарушении локомоторного и ориентировочно-исследовательского поведения, пространственной памяти и повышенной тревожности. Трифтазин в дозе 0,35 мг/кг при курсовом 5-дневном применении не уменьшает дефицита социального взаимодействия, не влияет на интеллектуальную продуктивность, но улучшает ориентировочно-исследовательское поведение и снижает тревожность у подростков самцов крыс с ФВС.

ФВС, индуцируемый пренатальным введением ВПК, является адекватной и широко используемой моделью для изучения РАС. Введение ВПК индуцирует дефекты нервной трубки, аномальную массу головного мозга при рождении и поведенческие нарушения у потомства грызунов, проявляющиеся в стереотипном поведении, снижении социального взаимодействия, уменьшении интереса к социальной новизне. На экспериментальной модели ФВС отмечаются такие фенотипические проявления РАС, как повышение тревожности, нарушение реверсивного обучения, нарушение памяти на состояния и условия, вызывающие страх, нарушение поведения гнездования у грызунов [6].

В мозге крыс с ФВС выявлено увеличение контактов и пластичности нейронов в области медиального отдела префронтальной коры (mPFC) наряду с увеличением соотношения NMDA/AMPA [7]. Нейровизуализация вентральной части mPFC у здоровых испытуемых выявила возрастание активности в этой области мозга в состоянии покоя и деактивацию при выполнении когнитивных задач. mPFC вовлечена в процессы социального научения и развития когнитивного диссонанса [8], управляет эмоциональной регуляцией поведения, прогнозированием активности и ее корректировкой, волевым контролем, концентрацией внимания [9]. У взрослых животных с ФВС показана дисрегуляция долговременной потенциации нейронов и уменьшенных токов, опосредованных NMDA рецепторами в mPFC, что не наблюдается в раннем постнатальном периоде и в подростковом возрасте [10]. В других исследованиях у крыс, подвергшихся пренатальному воздействию ВПК, отмечались aberrantная экспрессия субъединицы рецептора ГАМК<sub>A</sub>, изменение связывания бензодиазепинов [11], уменьшение экспрессии глутаматдекарбоксилазы, катализирующей декарбоксилирование глутамата до ГАМК и CO<sub>2</sub> в молодых нейронах, приводящей к дисбалансу системы возбуждения/торможения. У контрольных крыс повышенная в период раннего пренатального развития активность ГАМК подвергается затормаживанию при рождении, возможно, путем нейромодуляции окситоцином. Подобный механизм не наблюдается у животных с ФВС, что приводит к гиперактивности нейронов и увеличению глутаматергической нейротрансмиссии [12]. Walcott с коллегами обнаружили, что повышенная возбудимость нейронов у молодых крыс с ФВС с возрастом постепенно корректировалась до нормального уровня, и предположили наличие задержки в созревании нейронов [13].

С учетом вышесказанного и известных данных об изменении социального поведения, тревожности и других аспектов поведения в зависимости от возраста [3, 14], целью настоящего исследования было изучение особенностей поведения самцов молодых взрослых крыс линии Вистар с ФВС возрастом P56—P57 дней и оценка влияния трифазина на проявление симптомов РАС в условиях данной экспериментальной модели.

### Материалы и методы

**Объект исследования.** Исследования выполнены на самцах крыс линии Вистар. Родительское поколение (самки и самцы) были получены из питомника «Столбовая» (Московская область) одной партией. Организация и проведение экспериментов осуществлялись в соответствии с приказом Минздрава России №199 от 1 апреля 2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Животные содержались в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. №51.

**Моделирование РАС у крыс линии Вистар.** ФВС, который характеризуется комплексом признаков, схожим с симптомами РАС, вызывали однократным внутрибрюшинным введением ВПК (Sigma-Aldrich Company) в дозе 500 мг/кг самкам крыс линии Вистар на 13 день гестации [15]. Для получения животных пассивного контроля самкам крыс линии Вистар на 13 день гестации вводили воду для инъекций в эквивалентном объеме. Новорожденных крысят содержали в одной клетке с матерью до 21-го дня постнатального развития, после чего проводили их отлучение и равномерное распределение по экспериментальным группам. В каждой экспериментальной группе было по 10—15 животных.

С P30 по P55 дни жизни крысята получали трифазин в дозе 0,35 мг/кг или воду для инъекций (группы «ФВС» и «Контроль») перорально (внутрижелудочно) при помощи зонда однократно ежедневно. В день проведения экспериментов вещества не вводили. Все животные проходили все тесты последовательно.

**Тест «Социальное взаимодействие»** [7, 16, 17]. Исследование проводили в специальной установке, представляющей собой камеру с прозрачными стенками длиной 80 см, шириной 32 см и высотой 45 см. Камера поделена прозрачными перегородками с дверцами на три равных отсека, сообщающимися между собой. Тестируемое животное помещают в центральный отсек установки, а в крайние отсеки помещают новые, незнакомые объекты: в один — незнакомую крысу того же пола и возраста, что и тестируемое животное, а в другой — новый несоциальный объект. Объекты прикрывают цилиндрами (11 см в высоту и 9 см в диаметре) со стенками из металлической сетки. Оценивают время, проведенное животным в каждом из отсеков, время обследования объектов и число заходов в отсеки в течение 10 минут. По полученным показателям вычисляют коэффициент предпочтения социального объекта по формуле:  $K = B / (A + B)$ , где А — время нахождения животного в отсеке с несоциальным объектом и В — время нахождения тестируемой крысы в отсеке с социальным объектом.

**Тест «Открытое поле» (ОП).** Исследование локомоторной, ориентировочно-исследовательской активности

и особенностей поведения при повторном предъявлении знакомой обстановки проводили у молодых взрослых крыс с ФВС на 56-й и 57-й дни постнатального развития. Установка «Открытое поле» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия) представляет собой арену круглой формы диаметром 97 см, высотой стенок 42 см и диаметром отверстий в полу (в количестве 13 штук) 2 см. Пол арены расчерчен на три ряда секторов одинаковой площади (центральный, пристеночный (периферия) и прецентральный — «2/3 поля»). Животное помещают в центр поля и в течение 3 минут регистрируют число горизонтальных перемещений, вертикальных движений (стойки), актов поисковой активности (заглядывание в отверстия) и груминга [18]. По полученным показателям вычисляют индекс тревожности (отношение показателя горизонтальной активности в центральном и прецентральном секторах поля к сумме показателей активности на периферии, прецентральном и центральном секторах поля) [5].

**Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ).** Метод основан на инстинктивном предпочтении грызунами темных нор, естественного страха нахождения на открытых площадках и падения с высоты [18]. Установка «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (ООО «НПК Открытая Наука», Россия) представляет собой лабиринт с чередующимися двумя открытыми (светлыми) и двумя закрытыми (темными) рукавами шириной 14 см и длиной 50 см и соединяющей рукава квадратной центральной площадкой со стороны, равной 14 см. Темные рукава установки ограничены бортиками высотой 30 см, установка приподнята над полом на 60 см. Крыс помещают в ярко освещенный центральный отсек лабиринта и в течение 5 минут регистрируют время, проведенное в светлых и темных рукавах, число заходов в них и число выглаживаний из закрытых рукавов.

**Тест «У-образный лабиринт».** Согласно Wilson с соавторами [19], у пренатально стресс-индуцированных животных наблюдаются грубые изменения врожденного оборонительного поведения. В связи с этим было изучено поведение крыс с ФВС возрастом P57 в тесте «У-образный лабиринт» с предъявлением аверсивного социального запаха. Установка «У-образный лабиринт» состоит из трех радиально отходящих от центра под одинаковым градусом рукавов длиной 50 см, шириной 10 см и высотой стенок 12 см, выполненных из непрозрачного материала (ООО «НПК Открытая Наука», Россия). В один из 3-х рукавов лабиринта помещали чашку Петри с песком, пропитанным мочой кошки, а два других рукава оставляли свободными. Крыс (P 57) индивидуально помещали в один из свободных рукавов лабиринта («домашний» рукав) и в течение 5 мин регистрировали продолжительность пребывания животных в каждом рукаве («домашнем» (А), «альтернативном» (Б) и «опасном» (С)).

**Статистическая обработка** экспериментальных данных проводилась с помощью программы Statistica 10.0. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро—Уилка. Достоверность различий между группами рассчитывали, используя непараметрический анализ для независимых переменных (U-тест Манна—Уитни), для внутригрупповых сравнений использовали парный критерий Вилкоксона. Результаты в таблицах представлены как медиана и квартили 25% и 75% (Me (Q1; Q3)). Различия между группами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

У контрольной группы крыс линии Вистар (P56) в условиях теста «Социальное взаимодействие» выявлено явное предпочтение отсека с социальным объектом: животные проводили в нем в 6,4 раза больше времени, чем в отсеке, содержащем несоциальный объект (табл. 1). Напротив, крысы с ФВС на 56-й день их постнатального развития оказывали предпочтение отсеку с несоциальным объектом, где проводили в 2,9 раза больше времени, чем в отсеке с социальным объектом. Время нахождения животных с ФВС в отсеке с социальным объектом было достоверно ниже, а в отсеке с социально незначимым объектом — достоверно выше, чем в группе контроля. Длительность обнюхивания социального объекта крысами группы «ФВС» также была в 2,6 раза ниже по сравнению с группой «Контроль» (табл. 1). Крысы контрольной группы посещали отсек с социальным объектом почти в 1,5 раза чаще, чем отсек с несоциальным объектом, тогда как крысы группы «ФВС» осуществляли равное количество заходов в разные по социальной значимости отсеки (табл. 1). Таким образом, крысы группы «ФВС» возрастом P56 демонстрировали низкий уровень социального взаимодействия, что подтверждается показателем коэффициента предпочтения социального отсека, который был в 3 раза меньше ( $p < 0,05$ ) показателя группы «Контроль».

При введении трифтазина в дозе 0,35 мг/кг различий между продолжительностью нахождения животных с ФВС в отсеке с социальным и несоциальным объектами не выявлено. В группе, получавшей препарат, коэффициент предпочтения социального отсека был в 2 раза выше, чем у животных группы «ФВС», однако различия не достигали уровня значимости. Трифтазин вызывал достоверное увеличение в 2,8 раза времени обнюхивания социального объекта по сравнению с группой активного контроля (табл. 1). Препарат значительно повышал двигательную активность животных относительно соответствующих значений групп «Контроль» и «ФВС». При этом различий в количестве посещений разных по социальной значимости отсеков у животных, получавших трифтазин, не обнаружено (табл. 1).

Таким образом, 56-дневные крысы линии Вистар с ФВС определяются как малообщительные животные,

демонстрирующие низкий уровень социального взаимодействия, что характерно для аномалий поведения при РАС. Длительное введение трифтазина в дозе 0,35 мг/кг (25 дней) самцам крыс с ФВС возрастом P56 приводило только к увеличению времени обнюхивания социального объекта, но не влияло на другие показатели «общительности», оцениваемые в тесте.

В работе Iwata с соавторами [20] показано, что аутичные крысы не демонстрируют изменений в поведении в незнакомой обстановке. Подобное наблюдается, например, при первичной посадке крыс с РАС в установку ОП. Однако в знакомой (привычной) обстановке у таких животных наблюдается гиперактивность. В нашем эксперименте поведение крыс в тесте ОП первично (незнакомая обстановка) регистрировали на 56-й день постнатального развития. Различий между показателями групп «ФВС» и «Контроль» не отмечено (табл. 2).

При повторном тестировании (P57) контрольных крыс в установке ОП не выявлено различий с параметрами, зарегистрированными при первой их посадке. Крысы с ФВС при повторной посадке в установку ОП демонстрировали выраженное гиперактивное поведение, проявлявшееся в увеличении горизонтальной и вертикальной двигательной активности (табл. 2). Так, общая горизонтальная активность крыс с ФВС достоверно повышалась на 65,9% по сравнению с показателем крыс группы «Контроль». Данное повышение происходило в основном за счет увеличения числа пробежек на периферии установки, составившего 75,0% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Вертикальная активность крыс с ФВС при повторной посадке в установку ОП значимо возросла (в 2 раза) по сравнению с показателем группы «Контроль», при этом по числу актов груминга и заглядываний в норки относительно контрольных значений различий не было (табл. 2).

В группе крыс с ФВС, получавших трифтазин, при повторном тестировании в тесте ОП на P57 день их жизни также отмечался повышенный уровень горизонтальной двигательной активности по сравнению с данными контрольной группы. На фоне препарата выявлено недостоверное снижение вертикальной активности и значимое уменьшение на 62,5% числа актов груминга по сравнению с группой «ФВС» (табл. 2).

Таблица 1

Влияние трифтазина на поведение крыс с ФВС в тесте «Социальное взаимодействие»

Показатели	Контроль, n = 10	ФВС, n = 10	ФВС + Трифтазин 0,35 мг/кг, n = 10
Время нахождения в отсеке с несоциальным объектом (А), с	79,0 (38,5; 118,5)#	441,0 (204,0; 517,0)*	220,0 (193,0; 281,0)
Время нахождения в отсеке с социальным объектом (Б), с	508,0 (436,5; 541,5)	154,0 (55,0; 296,0)*	300,0 (275,0; 364,0)*
Коэффициент предпочтения социального отсека: Б / (А + Б)	0,9 (0,8; 0,9)	0,3 (0,1; 0,5)*	0,6 (0,5; 0,7)
Время обнюхивания несоциального объекта (А), с	53,0 (15,0; 72,0)#	57,0 (30,0; 79,0)	63,0 (25,0; 82,0)#
Время обнюхивания социального объекта (Б), с	120,0 (46,0; 162,0)	46,0 (18,0; 65,0)*	130,0 (51,0; 185,0)&
Число заходов в отсек с несоциальным объектом (А), ед.	2,0 (2,0; 3,0)	2,0 (1,0; 3,0)	6,0 (4,0; 8,0)*&
Число заходов в отсек с социальным объектом (Б), ед.	3,0 (2,0; 4,0)	2,0 (1,0; 3,0)	6,0 (4,0; 8,0)*&
Общая двигательная активность, ед.	5,0 (4,0; 7,0)	4,0 (3,0; 6,0)	12,0 (8,0; 16,0)*&
Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», критерий Манна—Уитни; & — $p < 0,05$ по сравнению с группой «ФВС», критерий Манна—Уитни; # — $p < 0,05$ по сравнению показателями, регистрируемыми в отсеке с социальным объектом (внутригрупповое сравнение), парный критерий Вилкоксона, n — число животных в группе.			

Таким образом, при повторном предъявлении знакомых условий среды крысы с экспериментальным РАС, вызванным пренатальным введением ВПК, демонстрируют отклонение в поведении, в частности, гиперлокомоцию. Трифтазин не способствовал снижению повышенных показателей горизонтальной двигательной активности при повторном тестировании животных с ФВС в тесте ОП. На фоне препарата отмечалось недостоверное снижение вертикальной активности по сравнению с показателями группы «ФВС» и уменьшение числа актов груминга (табл. 2).

Для оценки уровня тревожности животных с ФВС был использован индекс, который рассчитывали, используя показатели, полученные при первом тестировании крыс в установке ОП. Индекс тревожности рассчитывали по соотношению суммы числа пересеченных квадратов к сумме вертикальных стоек и заглядываний в отверстие. По снижению этого показателя можно судить о наличии анксиолитической активности препаратов в тесте ОП. У животных группы «ФВС» на P56 день постнатального развития данный коэффициент был равен 2,75, что было на 32,2% больше, чем в группе контрольных животных (коэффициент — 2,08), тогда как в группе крыс с ФВС, получавших трифтазин, он был равен 2,54, что было всего на 7,6% меньше, чем в группе крыс с ФВС, которым не вводили трифтазин.

Полученные данные о тревожности крыс с ФВС на P56 день жизни согласуются с ранее отмеченными результатами [5], где соотношение суммы пересеченных квадратов к сумме вертикальных стоек и заглядываний в «норки» в группе крыс с ФВС среднего подросткового возраста (P36) было на 29,2% выше, чем в контрольной группе. При этом показатель группы, которой вводили трифтазин, был на 16,2% ниже значений группы, не получавшей препарат. Данный факт о влиянии трифтазина в совокупности с увеличением в 2,2 раза вертикальной активности, ростом числа пересечений животными прецентральной части поля, а также с уменьшением числа актов груминга у крыс с ФВС в возрасте P36 на фоне его введения отно-

сительно показателей животных группы «ФВС» свидетельствует о наличии противотревожного действия у препарата. Отмеченное же в настоящей работе снижение противотревожной активности трифтазина у молодых взрослых крыс (P56) согласуется с данными о возможном отсутствии воздействий или снижении анксиолитической активности агентов, действенных в подростковом периоде, во взрослом состоянии [3].

Оценка поведения молодых взрослых крыс с экспериментальным РАС в тесте ПКЛ показала, что время их нахождения в светлых и темных рукавах, а также на центральной площадке не отличались от соответствующих параметров животных группы «Контроль». Однако число заходов в светлый рукав и в темный рукав, совершаемых крысами с ФВС, имело тенденцию к повышению на 50% ( $p = 0,094$ ) по сравнению с контрольной группой (табл. 3). При этом крысы с ФВС осуществляли на 75% меньше выглядываний из темных рукавов лабиринта по сравнению с группой «Контроль» (табл. 3). Под тревожностью этологи понимают защитный ответ организма на потенциальное присутствие угрозы (в отличие от страха, вызванного реальным угрожающим стимулом). Страх является адаптивной реакцией, в то время как повышенная тревожность дезадаптирует организм. Отсутствие временных различий в продолжительности нахождения животных с ФВС в светлых и темных рукавах лабиринта при одновременном повышенном числе заходов в них, с учетом значительного снижения числа выглядываний из темных рукавов по сравнению с контрольными животными, возможно, указывает на повышение тревожности животных с ФВС и их дезадаптационное стереотипноподобное поведение в тесте ПКЛ.

Трифтазин не оказывал влияния на поведение крыс с экспериментальным РАС в тесте ПКЛ. На фоне введения препарата зафиксировано недостоверное снижение числа заходов в светлый рукав и увеличение времени нахождения на центральной площадке, а также повышение числа выглядываний из темного рукава лабиринта относительно соответствующих показателей животных группы «ФВС» (табл. 3).

Таблица 2

Влияние трифтазина на поведение крыс с ФВС в тесте «Открытое поле»

Группа	Двигательная активность, ед.				Вертикальная	Норки, ед.	Груминг, ед.
	Горизонтальная						
	периферия	2/3 поля	центр	общая			
Первое предъявление установки крысам с ФВС на P56 день							
Контроль, n = 15	20,0 (15,0; 24,5)	4,0 (1,0; 5,5)	0,0 (0,0; 1,0)	25,0 (19,5; 27,5)	5,0 (4,0; 7,0)	7,0 (3,0; 9,0)	4,0 (2,5; 4,5)
ФВС, n = 10	19,5 (14,3; 28,5)	1,5 (1,0; 3,8)	0,0 (0,0; 0,0)	22,0 (15,3; 29,5)	4,5 (2,3; 6,8)	3,5 (2,0; 6,5)	3,0 (2,0; 5,5)
ФВС + Трифтазин 0,35 мг/кг, n = 10	25,5 (21,3; 32,5)	1,0 (1,0; 2,8)	0,0 (0,0; 0,0)	28,0 (23,3; 34,5)	5,0 (4,0; 6,0)	6,0 (3,3; 9,3)	2,0 (1,3; 2,8)
Повторное предъявление установки крысам с ФВС на P57 день							
Контроль, n = 15	18,0 (15,0; 27,5)	2,0 (1,0; 3,5)	0,0 (0,0; 0,5)	22,0 (17,0; 29,5)	5,0 (3,0; 7,0)	6,0 (4,0; 7,0)	5,0 (3,0; 5,0)
ФВС, n = 10	31,5 (26,0; 40,8)*	2,0 (1,0; 2,8)	0,0 (0,0; 0,0)	36,5 (27,0; 43,8)*	10,0 (4,0; 13,8)*	3,5 (2,0; 7,3)	4,0 (4,0; 6,0)
ФВС + Трифтазин 0,35 мг/кг, n = 10	31,5 (28,5; 41,8)*	1,5 (1,0; 2,0)	0,0 (0,0; 0,0)	35,0 (30,3; 43,8)*	5,0 (4,3; 9,3)	7,0 (4,0; 10,8)	2,5 (1,3; 4,5)#
Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», критерий Манна—Уитни, # — $p < 0,05$ по сравнению с группой «ФВС», критерий Манна—Уитни, n — число животных в группе.							

Исследование реакции избегания на аверсивный безусловный раздражитель (запах хищника) в тесте «Y-образный лабиринт» у крыс группы «Контроль» показало, что в норме животные избегают «опасного» рукава. Так, время, проведенное в рукаве «С», содержащем раздражитель — чашку Петри с песком, пропитанным мочой кошки, у крыс контрольной группы было в 2,95 и 2,36 раза меньше, чем в «домашнем» и «альтернативном» рукавах, а доля времени, проведенного в рукаве «С», относительно двух других рукавов лабиринта составила 10,4% (табл. 4).

Тестирование молодых взрослых крыс с ФВС выявило у них нарушения врожденного оборонительного рефлекса на аверсивный запах мочи хищника, что выразилось в увеличении продолжительности пребывания животных в опасном рукаве «С» в 1,92 и 1,54 раза относительно «домашнего» и «альтернативного» рукавов, соответственно, и в достоверном росте в 3,86 раза доли времени, проведенного в «опасном» рукаве, относительно контрольной группы (табл. 4).

Терапия трифтазином в дозе 0,35 мг/кг (хроническое введение) не оказывала влияния на нормализацию реакции избегания крыс с ФВС возрастом P56 дней на предъявление аверсивного запаха. На фоне препарата отмечался высокий процент времени нахождения крыс с ФВС в «опасном» отсеке установки (табл. 4).

### Заключение

В приведенном исследовании показано, что пренатальное введение ВПК на 13 день гестации крыс линии Вистар вызывает выраженные отклонения в поведении потомства и обладает негативным воздействием на формирование внутривидовых реакций крыс, что приводит к развитию состояний, характерных для РАС. Так, ранее было показано, что у крысят с ФВС на P36 день жизни

наблюдается снижение социальных контактов, что было продемонстрировано предпочтением несоциального объекта социальному в тесте «Социальное взаимодействие». Также у крысят с ФВС выявлено нарушение ориентировочно-исследовательского поведения и рост уровня тревожности в тесте «Открытое поле», зафиксировано нарушение исследовательского поведения, способности к обучению и пространственной памяти в тесте «Y-образный лабиринт», проявившееся в достоверном снижении времени, проведенном в «новом» рукаве установки по сравнению с ранее предъявлявшимися, и в повышении локомоторной активности по сравнению с животными без ФВС [5]. В настоящем исследовании нарушенный поведенческий паттерн у крыс с ФВС зарегистрирован и на P56 день постнатального развития, проявившийся в еще более выраженном социальном дефиците в тесте «Социальное взаимодействие», гиперактивности в знакомой обстановке (повторная посадка в установку ОП), в повышении уровня тревожности в ПКЛ, и в грубом нарушении врожденного оборонительного поведения в присутствии аверсивного страх-индуцирующего запаха хищника в установке «Y-образном лабиринт».

Нейролептики фенотиазинового ряда, в частности трифтазин, обычно используются у пациентов с РАС для коррекции таких проявлений, как агрессия, аутоагрессия, двигательная расторможенность, страхи, тревожность, стереотипное двигательное возбуждение. Показано, что у людей трифтазин оказывает активирующий эффект, повышает речевую активность, улучшает способность к контакту, интеллектуальную продуктивность. Однако в настоящем исследовании трифтазин в дозе 0,35 мг/кг при его длительном введении (с P30 дня жизни, ежедневно) был не эффективен или оказывал слабое влияние на нарушенные паттерны поведения самцов крыс с экспериментальным РАС в возрасте P56.

Таблица 3

Влияние трифтазина на поведение крыс линии Вистар с ФВС (P56) в тесте «ПКЛ»

Группа	Время нахождения, с		Время нахождения на центральной площадке, с	Число заходов, ед.		Число выглядываний, ед.
	в светлом рукаве	в темном рукаве		в светлый рукав	в темный рукав	
Контроль, n = 15	5,0 (0,0; 10,0)	283,0 (270,0; 295,0)	8,0 (0,0; 11,0)	1,0 (0,0; 1,0)	2,0 (1,0; 3,0)	4,0 (2,0; 5,5)
ФВС, n = 10	8,0 (3,5; 13,8)	278,5 (277,3; 287,3)	4,5 (2,3; 13,3)	1,5 (1,0; 2,0)	3,0 (2,3; 3,8)	1,0 (0,3; 2,8)*
ФВС + Трифтазин 0,35 мг/кг, n = 10	9,5 (0,0; 11,5)	261,0 (256,0; 278,8)	13,0 (5,3; 33,3)	1,0 (0,0; 2,0)	5,5 (2,0; 6,0)	3,5 (1,5; 4,0)

Примечание. \* —  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль», критерий Манна–Уитни,  $n$  — число животных в группе.

Таблица 4

Влияние трифтазина на поведение крыс с ФВС на P56 день в тесте «Y-образный лабиринт» при предъявлении социального аверсивного запаха

Группа	Время нахождения в рукаве, с			Доля времени в рукаве "С", %
	А	Б	С	
Контроль, n = 15	65,0 (28,0; 185,0)	52,0 (26,0; 85,0)	22,0 (14,5; 38,5)	10,4 (8,1; 17,9)
ФВС, n = 10	52,0 (25,0; 88,0)*	65,0 (50,0; 105,0)	100,0 (45,0; 117,0)*	40,2 (34,1; 50,0)*
ФВС + Трифтазин 0,35 мг/кг, n = 10	70,0 (50,0; 93,0)	55,0 (30,0; 70,0)	80,0 (57,0; 127,0)	39,2 (22,7; 48,8)

Примечание. \* —  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль», критерий Манна–Уитни,  $n$  — число животных в группе.

## Список литературы

## References

1. Levy S.E., Mandell D.S., Schultz R.T. Autism. *Lancet* 2009; 374(9701): 1627-1638. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61376-3
2. Spear L.P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2000; 24 (4): 417-463. DOI:10.1016/S0149-7634(00)00014-2
3. Varlinskaya E.I., Spear L.P. Increases in anxiety-like behavior induced by acute stress are reversed by ethanol in adolescent but not adult rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2012; 100(3): 440-450. DOI: 10.1016/j.pbb.2011.10.010
4. Varlinskaya E.I., Spear L.P. Social interactions in adolescent and adult Sprague-Dawley rats: Impact of social deprivation and test context familiarity. *Behav. Brain Res.* 2008; 188(2): 398-405. DOI:10.1016/j.bbr.2007.11.024
5. Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А., Процун Г.В. Влияние трифтазина на проявления расстройств аутистического спектра у крыс с фетальным вальпроатным синдромом. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2017; 3: 34-38.
6. Kim K.C., Gonzales E.L., Lazaro M.T., Choi C.S., Bahn G.H., Yoo H.J., Shin C.Y. Clinical and Neurobiological Relevance of Current Animal Models of Autism Spectrum Disorders. *Biomol. Ther.* 2016; 24(3): 207-243. DOI: 10.4062/biomolther.2016.061
7. Rinaldi T., Perrodin C., Markram H. Hyper-connectivity and hyper-plasticity in the medial prefrontal cortex in the valproic acid animal model of autism. *Front. Neural Circuits.* 2008; 2(4): 1-7. DOI: 10.3389/neuro.04.004.2008
8. Izuma K., Matsumoto M., Murayama K., Samejima K., Sada-to N., Matsumoto K. Neural correlates of cognitive dissonance and choice-induced preference change. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2010; 107(51): 22014-22019. DOI: 10.1073/pnas.1011879108
9. Falk E.B., Berkman E.T., Mann T., Harrison B., Lieberman M.D. Predicting persuasion-induced behavior change from the brain. *J. Neurosci.* 2010; 30(25): 8421-8424. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0063-10.2010
10. Martin H.G., Manzoni O.J. Late onset deficits in synaptic plasticity in the valproic acid rat model of autism. *Front. Cell. Neurosci.* 2014; 8(23): 1-8. DOI:10.3389/fncel.2014.00023
11. Oblak A.L., Gibbs T.T., Blatt G.J. Reduced GABAA receptors and benzodiazepine binding sites in the posterior cingulate cortex and fusiform gyrus in autism. *Brain Res.* 2011; 1380: 218-228. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.09.021
12. Tyzio R., Nardou R., Ferrari, DC., Tsintsadze T., Shahrokhhi A., Eftekhari S., Khalilov I., Tsintsadze V., Brouchoud C., Chazal G., Lemonnier E., Lozovaya N., Burnashev N., Ben-Ari Y. Oxytocin-mediated GABA inhibition during delivery attenuates autism pathogenesis in rodent offspring. *Science.* 2014; 343: 675-679. DOI: 10.1126/science.1247190
13. Walcott E.C., Higgins E.A., Desai N.S. Synaptic and intrinsic balancing during postnatal development in rat pups exposed to valproic acid in utero. *J. Neurosci.* 2011; 31: 13097-13109 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1341-11.2011
14. Mooney S.M., Varlinskaya E.I. Acute prenatal exposure to ethanol and social behavior: effect of age, sex, and timing of exposure. *Behav. Brain Res.* 2011; 216(1): 358-364. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.08.014
15. Rodier P.M., Ingram J.L., Tisdale B., Croog V.J. Linking etiologies in humans and animal models: studies of autism. *Reprod. Toxicol.* 1997; 11: 417-422.
16. Crawley J.N. Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 2004; 10: 248-58. DOI:10.1002/mrdd.20039
17. Bambini-Junior V., Zanatta G., Nunes G.D.F., Mueller de Melo G., Michels M., Fontes-Dutra M., Freire V.N., Riesgo R., Gottfried C. Resveratrol prevents social deficits in animal model of autism induced by valproic acid. *Neurosci. Lett.* 2014; 583: 176-181. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.09.039
18. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под редакцией Миронова А.Н. М.: Гриф и К; 2012: 944.
19. Wilson C.A., Vazdarjanova A., Terry A.V. Exposure to variable prenatal stress in rats: effects on anxiety-related behaviors, innate and contextual fear, and fear instinct. *Behav. Brain Res.* 2013; 238: 279-288. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.10.003
20. Iwata K., Izumo N., Matsuzaki H., Manabe T., Ishibashi Y., Ichitani Y., Yamada K., Thanseem I., Anitha A., Vasu MM, Shimmura C, Wakuda T., Kameno Y., Takahashi T., Iwata Y., Suzuki K., Nakamura K., Mori N. Vldlr overexpression causes hyperactivity in rats. *Molecular Autism.* 2012; 3: 11. DOI: 10.1186/2040-2392-3-11
1. Levy S.E., Mandell D.S., Schultz R.T. Autism. *Lancet* 2009; 374(9701): 1627-1638. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61376-3
2. Spear L.P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2000; 24 (4): 417-463. DOI:10.1016/S0149-7634(00)00014-2
3. Varlinskaya E.I., Spear L.P. Increases in anxiety-like behavior induced by acute stress are reversed by ethanol in adolescent but not adult rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2012; 100(3): 440-450. DOI: 10.1016/j.pbb.2011.10.010
4. Varlinskaya E.I., Spear L.P. Social interactions in adolescent and adult Sprague-Dawley rats: Impact of social deprivation and test context familiarity. *Behav. Brain Res.* 2008; 188(2): 398-405. DOI:10.1016/j.bbr.2007.11.024
5. Kapitsa I.G., Ivanova E.A., Voronina T.A., Protsun G.V. [Effect of triflazine (trifluoperazine) on the symptoms of autism spectrum disorders in rats with fetal valproate syndrome]. *Farmakokinetika i Farmakodinamika [Pharmacokinetics and pharmacodynamics].* 2017; 3: 34-38. (in Russian)
6. Kim K.C., Gonzales E.L., Lazaro M.T., Choi C.S., Bahn G.H., Yoo H.J., Shin C.Y. Clinical and Neurobiological Relevance of Current Animal Models of Autism Spectrum Disorders. *Biomol. Ther.* 2016; 24(3): 207-243. DOI: 10.4062/biomolther.2016.061
7. Rinaldi T., Perrodin C., Markram H. Hyper-connectivity and hyper-plasticity in the medial prefrontal cortex in the valproic acid animal model of autism. *Front. Neural Circuits.* 2008; 2(4): 1-7. DOI: 10.3389/neuro.04.004.2008
8. Izuma K., Matsumoto M., Murayama K., Samejima K., Sada-to N., Matsumoto K. Neural correlates of cognitive dissonance and choice-induced preference change. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2010; 107(51): 22014-22019. DOI: 10.1073/pnas.1011879108
9. Falk E.B., Berkman E.T., Mann T., Harrison B., Lieberman M.D. Predicting persuasion-induced behavior change from the brain. *J. Neurosci.* 2010; 30(25): 8421-8424. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0063-10.2010
10. Martin H.G., Manzoni O.J. Late onset deficits in synaptic plasticity in the valproic acid rat model of autism. *Front. Cell. Neurosci.* 2014; 8(23): 1-8. DOI:10.3389/fncel.2014.00023
11. Oblak A.L., Gibbs T.T., Blatt G.J. Reduced GABAA receptors and benzodiazepine binding sites in the posterior cingulate cortex and fusiform gyrus in autism. *Brain Res.* 2011; 1380: 218-228. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.09.021
12. Tyzio R., Nardou R., Ferrari, DC., Tsintsadze T., Shahrokhhi A., Eftekhari S., Khalilov I., Tsintsadze V., Brouchoud C., Chazal G., Lemonnier E., Lozovaya N., Burnashev N., Ben-Ari Y. Oxytocin-mediated GABA inhibition during delivery attenuates autism pathogenesis in rodent offspring. *Science.* 2014; 343: 675-679. DOI: 10.1126/science.1247190
13. Walcott E.C., Higgins E.A., Desai N.S. Synaptic and intrinsic balancing during postnatal development in rat pups exposed to valproic acid in utero. *J. Neurosci.* 2011; 31: 13097-13109 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1341-11.2011
14. Mooney S.M., Varlinskaya E.I. Acute prenatal exposure to ethanol and social behavior: effect of age, sex, and timing of exposure. *Behav. Brain Res.* 2011; 216(1): 358-364. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.08.014
15. Rodier P.M., Ingram J.L., Tisdale B., Croog V.J. Linking etiologies in humans and animal models: studies of autism. *Reprod. Toxicol.* 1997; 11: 417-422.
16. Crawley J.N. Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 2004; 10: 248-58. DOI:10.1002/mrdd.20039
17. Bambini-Junior V., Zanatta G., Nunes G.D.F., Mueller de Melo G., Michels M., Fontes-Dutra M., Freire V.N., Riesgo R., Gottfried C. Resveratrol prevents social deficits in animal model of autism induced by valproic acid. *Neurosci. Lett.* 2014; 583: 176-181. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.09.039
18. [Guidance on preclinical study of new pharmacological substances]. Part 1. Ed.: A.N. by Mironov. M.: Grif and K; 2012: 944 pp. (in Russian)
19. Wilson C.A., Vazdarjanova A., Terry A.V. Exposure to variable prenatal stress in rats: effects on anxiety-related behaviors, innate and contextual fear, and fear instinct. *Behav. Brain Res.* 2013; 238: 279-288. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.10.003
20. Iwata K., Izumo N., Matsuzaki H., Manabe T., Ishibashi Y., Ichitani Y., Yamada K., Thanseem I., Anitha A., Vasu MM, Shimmura C, Wakuda T., Kameno Y., Takahashi T., Iwata Y., Suzuki K., Nakamura K., Mori N. Vldlr overexpression causes hyperactivity in rats. *Molecular Autism.* 2012; 3: 11. DOI: 10.1186/2040-2392-3-11

---

**Сведения об авторах**

*Капица Инга Геннадиевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова»*

*Иванова Елена Анатольевна — кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова»*

*Воронина Татьяна Александровна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова»*

*Калинина Анна Павловна — лаборант-исследователь лаборатории психофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова»*