

# НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-7-3-7

## ВЛИЯНИЕ АФОБАЗОЛА И ФЛУОКСЕТИНА НА ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОЕ ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ BALB/C ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ РАССТРОЙСТВА АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

И. Г. Капица\*, А. А. Алымов, Е. В. Савинкова, Т. А. Воронина, С. Б. Середенин<sup>1</sup>

Изучено влияние афобазола в сравнении с флуоксетином на депрессивноподобное поведение самцов и самок мышей линии BALB/c на экспериментальной модели расстройств аутистического спектра, вызванного однократным постнатальным введением вальпроата натрия в дозе 400 мг/кг. Установлено, что афобазол (10 мг/кг перорально с 15 по 52 дни постнатального развития) значительно снижал продолжительность иммобильности у самок мышей BALB/c в тесте “Подвешивание за хвост”, не изменяя показатели нарушенного поведения у самцов с расстройствами аутистического спектра. Сходные эффекты установлены для флуоксетина в дозе 10 мг/кг (перорально с 15 по 52 дни постнатального развития).

**Ключевые слова:** расстройства аутистического спектра; депрессия; сигма1-рецепторы; афобазол; флуоксетин; самцы и самки мышей линии BALB/c.

### ВВЕДЕНИЕ

Расстройство аутистического спектра (РАС) — это гетерогенная патология развития центральной нервной системы, проявляющаяся стойкими нарушениями социальной коммуникации, ограниченными и повторяющимися моделями поведения и интересами. У пациентов с РАС в детском, подростковом и взрослом возрасте часто отмечаются коморбидные психические заболевания [15, 16, 20], неодинаковые в различные периоды. У детей с РАС преобладают тревожные расстройства, синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ) и оппозиционно-вызывающее расстройство (ОВР), а с увеличением возраста при высокой частоте тревожных расстройств снижаются проявления СДВГ и ОВР, но значительно возрастает риск депрессии [16, 19]. По эпидемиологическим данным, у людей с РАС уровень депрессии почти в 4 раза выше, чем у населения в целом [16]. В ряде работ отмечается большая частота и тяжесть депрессии у женщин с РАС [17].

Депрессия и РАС имеют ряд сходных симптомов, что затрудняет диагностику и лечение. Отмечено, что применение антидепрессантов при РАС не всегда эффективно и сопровождается, особенно у детей, побочными эффектами [8].

В ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” разработан небензодиазепиновый анксиолитик афобазол — 5-этокси-2-[2-(морфолино)этилтио]бенз-

имидазола дигидрохлорид, обладающий сродством к рецепторному сайту шаперона сигма1, регуляторным сайтам хинонредуктазы 2 (NQO2) и моноаминоксидазы А (MAO-A), мелатониновому рецептору 1 типа (MT1-рецептор) [2, 4]. Сигма1-рецепторы участвуют в механизме анксиолитического и нейропротекторного эффектов афобазола [2]. Показана способность афобазола уменьшать социальный дефицит, когнитивную ригидность, тревожность, улучшать адаптивное поведение грызунов в экспериментальных моделях РАС [1, 3, 18]. В экспериментах на крысах выявлен антидепрессивный эффект афобазола, сходный с действием amitriptилина [6].

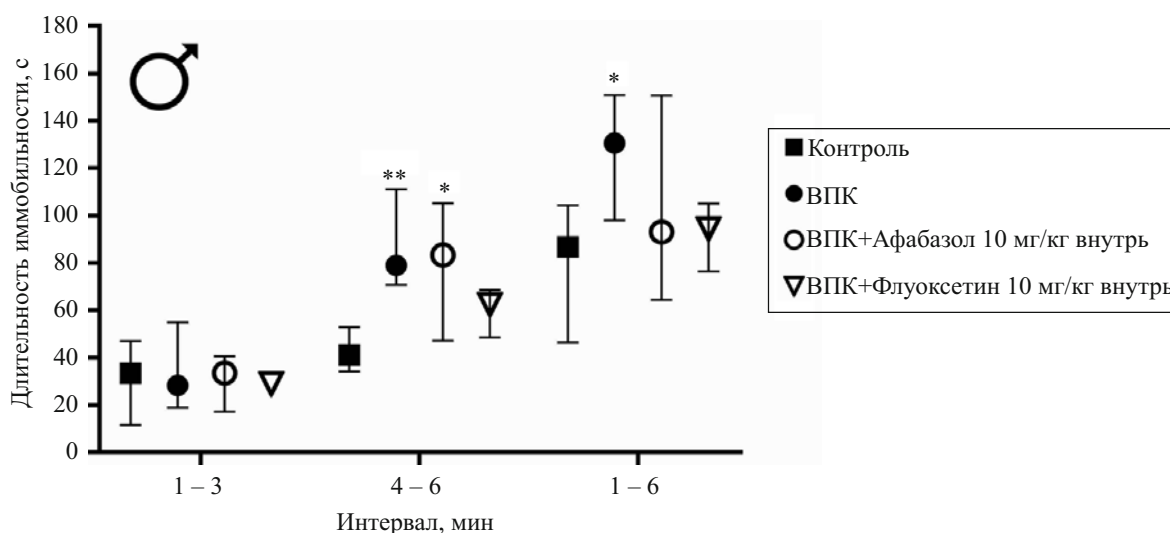
Целью исследования явилось изучение влияния афобазола на депрессивноподобное поведение самцов и самок мышей линии BALB/c на модели РАС, вызванной однократным постнатальным введением вальпроата натрия (ВПК) в токсической дозе, в сравнении с флуоксетином.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 52-дневных самцах и самках мышей линии BALB/c, родительское поколение которых было получено из филиала “Столбовая” ФГБНУ “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 33216-2014 и 33215-2014. Эксперименты проводили в соответствии с Международными правилами: Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сен-

<sup>1</sup> ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”, Россия, Москва, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

\* e-mail: ingakap73@mail.ru



**Рис. 1.** Влияние афобазола и флуоксетина на депрессивноподобное поведение самцов мышей BALB/c с РАС в тесте “Подвешивание за хвост”.

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  — достоверность различий относительно значений группы “Контроль”.

тября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, и с одобрения Комиссии по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” (протокол № 1 от 30.01.2021 г.). Для получения потомства к 2–3 виргинным самкам мышей BALB/c, находящимся на стадии проэструса или эструса, определяемой по цитологической картине влагалищного мазка, с 17:00 часов до 9:00 часов следующего дня подсаживали 1 самца. Оплодотворенных самок содержали по 4–5 особей в одной клетке до появления видимых признаков беременности, после чего размещали в индивидуальные клетки. День появления мышат принимали за “0” (нулевые) сутки постнатального развития. Отсадку мышат от матерей проводили на 21 сутки постнатального развития.

РАС моделировали введением ВПК в дозе 400 мг/кг (однократно подкожно) 14-дневным животным BALB/c, что соответствует 3 триместру пренатального развития человека, в течение которого в мозжечке, полосатом теле и гиппокампе происходят миграция нейронов, дифференцировка, миелинизация, синаптогенез и глиогенез. Введение ВПК в этот критический период развития вызывает когнитивный и моторный дефициты, аналогичные тем, которые наблюдаются у людей с РАС, а также нарушение нейрогенеза в структурах головного мозга, с которыми связана нейрпатология заболевания [11]. Мышам контрольной группы в те же сроки вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме (0,1 мл на 10 г массы тела).

В работе использовали афобазол (АО “Отисифарм”, серия 189638-30-0, дата производства 05/2018), натриевую соль вальпроевой кислоты (ВПК) (Sigma-Aldrich, Merck), а в качестве препарата сравнения — антидепрессант из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗ) флуоксетин

(флуоксетин гидрохлорид, Lannacher Heilmittel, GmbH, Австрия, изготовлен 06/2017).

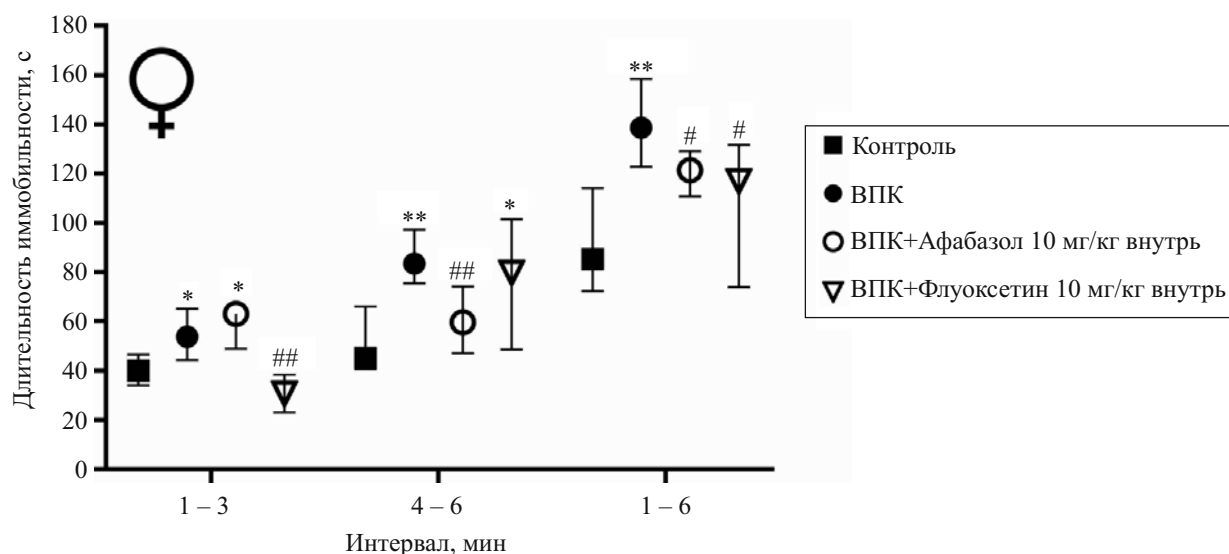
Животные были случайным образом распределены на 4 группы: “Контроль” — 12 самцов и 15 самок, “ВПК” — 9 самцов и 10 самок, “ВПК + Афобазол” — 8 самцов и 9 самок и “ВПК + Флуоксетин” — 6 самцов и 14 самок.

Афобазол и флуоксетин вводили самцам и самкам мышей BALB/c перорально в дозе 10 мг/кг ежедневно с 15 дня постнатального развития на протяжении 5 недель, т.е. до возрастного периода, соответствующего молодому взрослому животному (52 дня). Мышам BALB/c групп “Контроль” и “ВПК” в том же режиме вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме (0,1 мл на 10 г массы тела).

Тест “Подвешивание за хвост” основан на эффекте кратковременного неизбежного стресса, который приводит к “поведению отчаяния” — зависания в неподвижной позе. Антидепрессанты уменьшают частоту и продолжительность неподвижности [9].

Мышей подвешивали за кончик хвоста липкой лентой на штативе над горизонтальной поверхностью на высоте 40 см [23]. Общую продолжительность эпизодов полной неподвижности (иммобильности), как показателя депрессивноподобного состояния, регистрировали в течение 6 мин, с разбивкой на 2 интервала по 3 мин. Регистрация времени неподвижности производилась наблюдателем с помощью программы RealTimer ООО “НПК Открытая Наука”.

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. Достоверность различий рассчитывали, используя непараметрический анализ для независимых переменных ( $U$ -тест Манна —



**Рис. 2.** Влияние афобазола и флуоксетина на депрессивноподобное поведение самок мышей BALB/c с РАС в тесте “Подвешивание за хвост”.

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  — достоверность различий относительно значений группы “Контроль”, #  $p < 0,05$ ; ##  $p < 0,01$  достоверность различий относительно значений группы “ВПК”.

Уитни). Результаты представлены в виде медианы и квартилей (Me (Q1; Q3)). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ поведения 52-дневных мышей BALB/c с экспериментальным РАС, индуцированным постнатальным введением ВПК, в тесте “Подвешивание за хвост” выявил рост депрессивноподобного состояния у животных группы “ВПК”, что выразилось в увеличении длительности иммобильности как у самцов, так и у самок на 56,8 % и 54,3 %, соответственно за все 6 мин наблюдения в сравнении с группой “Контроль” (рис. 1, 2). Причем длительность неподвижности у самок группы “ВПК” в интервале наблюдения 1 – 3 мин была на 63 % больше, чем у самцов (53,8 (Q1; Q3: 44,3; 65,22) vs 28,24 (Q1; Q3: 18,98; 55,02),  $p < 0,05$ ).

Афобазол и флуоксетин не оказали статистически значимого влияния на уменьшение депрессивноподобного поведения самцов мышей BALB/c с РАС, снизив продолжительность иммобильности за все время наблюдения на 12,5 % и 18,7 %, соответственно, по сравнению с группой “ВПК” (рис. 1). Однако препараты были эффективны при введении самкам мышей BALB/c с РАС. Так, афобазол значимо уменьшил на 31,8 % и 18,5 % продолжительность неподвижности у самок BALB/c с РАС в интервалах наблюдения 4 – 6 и 1 – 6 мин, а флуоксетин — на 47,6 % и 25,7 % в интервалах наблюдения 1 – 3 мин и 1 – 6 мин, соответственно, по сравнению с группой “ВПК” (рис. 2).

Сравнительный анализ поведения мышей BALB/c с РАС в тесте “Подвешивание за хвост” на фоне введения афобазола и флуоксетина не выявил различий в их антидепрессивном действии (рис. 1, 2).

Полученные данные свидетельствуют о возможном наличии половых/гендерных особенностей в депрессивноподобном поведении мышей с РАС и ответе на фармакологическое воздействие и согласуются с фактами о большей частоте и тяжести депрессий у женщин с РАС [17].

Патогенетические механизмы депрессии связаны с функциональным дефицитом серотонинергической системы и со сложной дисрегуляцией норадренергической системы, при их тесном взаимодействии с дофамин-, холин-, глутамат- и ГАМК-ергической системами, и со снижением активности нейротрофических факторов мозга, в первую очередь, нейротрофического фактора мозга (BDNF) и его рецептора тропомиозиновой рецепторной киназой B (TrkB) [12]. Сигма1-рецепторы вовлекаются в патогенетические механизмы формирования депрессивного фенотипа, а также участвуют в фармакодинамике антидепрессантов с различными фармакологическими мишенями, в том числе в регуляции синтеза и экспрессии BDNF, что позволяет рассматривать применение их лигандов перспективным для фармакотерапии депрессии [10, 25].

Афобазол оказывает значимый антидепрессивный эффект у самок мышей BALB/c с экспериментальным РАС, сравнимый с эффективностью флуоксетина, что, по-видимому, обусловлено мультитаргетным действием препарата, опосредованным взаимодействием как с сигма1-рецепторами, в том числе, посредством регулирования уровня BDNF [5], так и с МГ1-рецепторами, агонисты которых могут быть эффективны при депрессии и РАС [21, 24], а также с ферментом MAO-A, ингибиторы которого повышают концентрацию моноаминов в синаптической щели и обладают антидепрессивным и стимулирующим эффектами.

Антидепрессанты из группы СИОЗС являются наиболее часто назначаемыми психотропными препаратами пациентам с РАС (21,4 % всех психотропных препаратов) [22], что обусловлено рядом сходных симптомов, сопровождающих РАС и депрессию: раздражительность, социальная отстраненность, низкая мотивация, задумчивость, уплощенный аффект, проблемы с аппетитом и сном и др. [8]. Однако назначение и выбор СИОЗС для пациентов с РАС должен осуществляться персонально, предпочтительно при появлении обсессивно-компульсивного расстройства и подтвержденной депрессии, тревоги (у взрослых), требует назначения изначально в низких дозах, медленно титрования и тщательного наблюдения за реакциями и побочными эффектами у пациентов, так как имеются доказательства, свидетельствующие о потенциальном вреде препаратов для этой популяции людей [13, 26]. Антидепрессант из группы СИОЗС флуоксетин разрешен для применения у пациентов с РАС начиная с 7-летнего возраста [7], и его действие направлено в основном на уменьшение повторяющихся/ограниченных актов поведения и/или интересов, однако препарат обладает ограниченной эффективностью у детей, может плохо переноситься, вызывать нервное возбуждение, гиперактивность и агрессию, повышенную тревогу, аллергию [8, 14, 26].

Таким образом, с учетом механизма действия афобазола и его способности влиять на основные симптомы РАС (уменьшать социальный дефицит, когнитивную ригидность, стереотипию, улучшать адаптивное поведение) [1, 18] и сопровождающие основное заболевание патологические состояния, например, снижать тревожность [3] и депрессивноподобное поведение, а также ввиду его благоприятного профиля переносимости и безопасности, препарат может рассматриваться как перспективное средство для терапии РАС.

## ВЫВОДЫ

1. Афобазол (10 мг/кг внутрь, 5 недель) на модели расстройств аутистического спектра, вызванной однократным постнатальным введением вальпроата натрия в дозе 400 мг/кг мышам BALB/c, оказывает выраженный антидепрессивный эффект у половозрелых молодых самок и не уступает по эффективности флуоксетину (10 мг/кг внутрь, 5 недель).

2. У самок мышей BALB/c на модели расстройства аутистического спектра проявление депрессивноподобного поведения и ответ на фармакологическое воздействие были более выражены, чем у самцов.

Исследование выполнено в рамках Государственного задания (проект № 122020100281-9).

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Алымов, И. Г. Капица, Т. А. Воронина, *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **108**(2), 170 – 182 (2022); doi: 10.31857/S0869813922020029.
2. М. В. Воронин, И. А. Кадников, Е. В. Абрамова, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **84**(2), 15 – 22 (2021); doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-2-15-22.
3. И. Г. Капица, Е. А. Иванова, Т. А. Воронина и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **82**(10), 3 – 7 (2019); doi: 10.30906/0869-2092-2019-82-10-3-7.
4. С. Б. Середенин, М. В. Воронин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **72**(1), 3 – 11 (2009); doi: 10.30906/0869-2092-2009-72-1-3-11.
5. С. Б. Середенин, Д. С. Мелкумян, Е. А. Вальдман и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **69**(3), 3 – 6 (2006); doi: 10.30906/0869-2092-2006-69-3-3-6.
6. С. Б. Середенин, Г. М. Молодавкин, М. В. Воронин и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **72**(1), 19 – 21 (2009); doi: 10.30906/0869-2092-2009-72-1-19-21.
7. Н. В. Симашкова, *Эффективная фармакотер.*, **19**, 44 – 50 (2011).
8. T. Chandrasekhar, L. Sikich, *Dialogues Clin. Neurosci.*, **17**(2), 219 – 227 (2015); doi: 10.31887/DCNS.2015.17.2/tchandra-sekhar.
9. J. F. Cryan, C. Mombereau, A. Vassout, *Neurosci. & Biobehav. Rev.*, **29**(4 – 5), 571 – 625 (2005); doi: 10.1016/j.neubiorev.2005.03.009.
10. E. J. Cobos, J. M. Entrena, F. R. Nieto, et al., *Curr. Neuropharmacol.*, **6**(4), 344 – 366 (2008); doi: 10.2174/157015908787386113.
11. B. Gouda, S. N. Sinha, M. Chalamaiiah, et al., *Biology (Basel)*, **11**(1), 79 (2022); doi: 10.3390/biology11010079.
12. R. S. Duman, S. Deyama, M. V. Fogaça, *Eur. J. Neurosci.*, **53**(1), 126 – 139 (2021); doi: 10.1111/ejn.14630.
13. M. De Filippis, *Children (Basel)*, **5**(9), 112 (2018); doi: 10.3390/children5090112.
14. C. Farmer, A. Thurm, P. Grant, *Drugs*, **73**(4), 303 – 314 (2013); doi: 10.1007/s40265-013-0021-7.
15. S. Griffiths, C. Allison, R. Kenny, et al., *Autism Res.*, **12**(10), 1516 – 1528 (2019); doi: 10.1002/aur.2162.
16. M. J. Hollocks, J. W. Lerh, I. Magiati, et al., *Psychol. Med.*, **49**(4), 559 – 572 (2019); doi: 10.1017/s0033291718002283.
17. C. C. Hudson, L. Hall, K. L. Harkness, *J. Abnorm. Child. Psychol.*, **47**(1), 165 – 175 (2018); doi: 10.1007/s10802-018-0402-1.
18. I. G. Kapitsa, A. P. Kalinina, A. A. Alymov, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **168**, 238 – 241 (2019); doi: 10.1007/s10517-019-04682-y.
19. A. G. Lever, H. M. Geurts, J. Autism. Dev. Disord., **46**(6), 1916 – 1930 (2016); doi: 10.1007/s10803-016-2722-8.
20. L. Licence, C. Oliver, J. Moss, C. Richards, *J. Autism. Dev. Disord.*, **50**(10), 3561 – 3574 (2020); doi: 10.1007/s10803-019-04260-1.
21. J. Liu, S. J. Clough, A. J. Hutchinson, et al., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **56**, 361 – 383 (2016); doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124742.
22. D. J. Posey, C. A. Erickson, C. J. McDougale, *Child Adolesc. Psychiatr. Clin. N. Am.*, **17**(4), 787 – 801 (2008); doi: 10.1016/j.jchc.2008.06.010.
23. L. Steru, R. Chermat, B. Thierry, P. Simon, *Psychopharmacol. (Berl.)*, **85**, 367 – 370 (1985); doi: 10.1007/BF00428203.
24. S. Tordjman, I. Najjar, E. Bellissant, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **14**(10), 20508 – 20542 (2013); doi: 10.3390/ijms141020508.
25. M. V. Voronin, Y. V. Vakhitova, S. B. Seredenin, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(19), 1 – 33 (2020); doi: 10.3390/ijms21197088.

26. K. Williams, A. Brignell, M. Randall, et al., *Cochrane Database Syst. Rev.*, **8**, CD004677 (2013); doi: 10.1002 / 14651858.CD004677.pub3.

Поступила 26.04.22

## **EFFECT OF AFOBAZOLE AND FLUOXETINE ON DEPRESSIVE-LIKE BEHAVIOR OF MALE AND FEMALE BALB/C MICE WITH MODEL AUTISM SPECTRUM DISORDERS**

**I. G. Kapitsa<sup>1,\*</sup>, A. A. Alymov<sup>1</sup>, E. V. Savinkova<sup>1</sup>, T. A. Voronina<sup>1</sup>,  
and S. B. Seredenin<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> V. V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, Baltiyskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

\* e-mail: ingakap73@mail.ru

The effect of afobazole in comparison to fluoxetine on depressive-like behavior in male and female BALB/c mice was studied in the experimental model of autism spectrum disorder (ASD) induced by single postnatal administration of sodium valproate at a dose of 400 mg/kg. It was found that afobazole (10 mg/kg, p.o. on days from 15 to 52 of postnatal development) significantly reduced the duration of immobility in female BALB/c mice in the "tail suspension" test, without changing the indicators of impaired behavior in males with ASD. Similar effects were observed for the action of fluoxetine at the same dose (10 mg/kg, p.o. on days from 15 to 52 days of postnatal development).

**Keywords:** autism spectrum disorders; depression; sigma-1 receptors; afobazole; fluoxetine; male and female BALB/c mice.