

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
НЕЙРОНАУК И МЕДИЦИНЫ»**

На правах рукописи

Чиждова Надежда Дмитриевна

**Влияние сочетания точечных мутаций L100P и Q31L в гене
Disc1 на проявление аффективных и когнитивных аспектов
поведения у мышей**

1.5.5. – Физиология человека и животных

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Доктор биологических наук
Т. Г. Амстиславская

Новосибирск 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. <i>DISC1</i> (Disrupted-In-Schizophrenia-1)	15
1.1.1. Структура гена и белка	15
1.1.2. Роль белка <i>DISC1</i> в функционировании ЦНС	15
1.2. Психические расстройства, ассоциированные с геном <i>DISC1</i>	16
1.2.1. История открытия ассоциации психопатологий и <i>DISC1</i>	16
1.2.2. Шизофрения	18
1.2.3. Депрессия	20
1.2.4. Коморбидность шизофрении и депрессии	22
1.3. Исследование шизофрено- и депрессивноподобного поведения в экспериментальных моделях психических расстройств	23
1.3.1. Критерии экспериментальной модели на животных	23
1.3.2. Эндофенотипы шизофреноподобного поведения	24
1.3.3. Эндофенотипы депрессивноподобного поведения	27
1.3.4. <i>Disc1</i> -генетические модели шизофрении и депрессии	27
1.4. Терапевтические подходы в лечении шизофрении и депрессии	30
1.4.1. Полиненасыщенные жирные кислоты	31
1.4.2. Использование омега-3 ПНЖК при терапии шизофрении и депрессии	32
1.4.3. Стриатумспецифичная протеин тирозинфосфатаза (STEP)	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	39
2.1. Экспериментальные животные	39
2.2. Поведенческое тестирование	40
2.2.1. Тревожность в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ)	41
2.2.2. Двигательная активность в открытом поле (ОП)	41
2.2.3. Депрессивноподобное поведение в тесте вынужденного плавания	41
2.2.4. Компульсивноподобное поведение в тесте на закапывание шариков	42
2.2.5. Социальное поведение в тесте «Социальная мотивация и распознавание»	42

2.2.6. Кратковременная пространственная память в Т-образном лабиринте	43
2.2.7. Сенсорно-моторная фильтрация в тесте «престимульное торможение реакции вздрагивания» (PPI)	43
2.2.8. Шизофреноподобное поведение в тесте «латентное торможение памяти страха» (LI)	44
2.2.9. Долговременная память в тесте на выработку условной реакции пассивного избегания (УРПИ, память страха) и её угашение	45
2.2.10. Вероятностное обучение при 80%-ном вознаграждении.....	46
2.3. Применение диеты, обогащенной ω -3 полиненасыщенными жирными кислотами.....	49
2.4. Применение блокатора стриатумспецифичной протеин тирозинфосфатазы (STEP).....	50
2.5. Статистическая обработка данных.....	50
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	51
3.1. Влияние мутаций <i>Disc1</i> -L100P и <i>Disc1</i> -Q31L в гомозиготном состоянии на выработку УРПИ и её угашение.....	51
3.2. Вероятностное обучение при 80% вознаграждении у гомо- и гетерозиготных по <i>Disc1</i> -L100P самцов мышей.....	56
3.3. Влияние двух мутаций в гене <i>Disc1</i> на поведение мышей	57
3.3.1. Шизофреноподобное поведение мышей с двумя мутациями в гене <i>Disc1</i> в зависимости от влияния матери	58
3.3.2. Эмоциональное поведение мышей с двумя мутациями в гене <i>Disc1</i> в зависимости от влияния матери	61
3.3.3. Социальное поведение мышей с двумя мутациями в гене <i>Disc1</i> в зависимости от влияния матери	64
3.4. Коррекция шизофреноподобного поведения мутантных по гену <i>Disc1</i> мышей с помощью диеты, обогащенной ω -3 ПНЖК	66
3.5. Коррекция шизофреноподобного поведения мутантных по гену <i>Disc1</i> мышей с помощью блокатора STEP.....	74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	77
ВЫВОДЫ	79
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	80
Приложение 1. Белки, взаимодействующие с DISC1, и связанные с ними психические расстройства человека	95

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АП – антипсихотики

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГМ – головной мозг

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖК – жирные кислоты

ОП – тест «открытое поле»

ОС – окислительный стресс

ПКЛ – тест «приподнятый крестообразный лабиринт»

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

ПФК – префронтальная кора

ЦНС – центральная нервная система

ЭЭГ – электроэнцефалография

ALA (α -Linolenic acid) – α -линоленовая кислота, АЛК

BDNF (brain derived neurotrophic factor) – нейротрофический фактор мозга

D2R – дофаминовые рецепторы 2го типа

DHA (Docosahexaenoic acid) – докозагексаеновая кислота, ДГК

DISC1 (Disrupted-In-Schizophrenia-1) – «нарушенный-при-шизофрении-1»

EPA (Eicosapentaenoic acid) – эйкозапентаеновая кислота, ЭПК

GSK-3 – киназа гликогенсинтазы 3го типа

GWAS (GWA study, genome-wide association studies) – полногеномный поиск ассоциаций

L100P/Q31L, *Disc1*^{L100P/Q31L} – мыши, компаунд-гетерозиготы, содержащие в одной аллели мутацию *Disc1*-L100P, а в другой – *Disc1*-Q31L

L100P-het – мыши, гетерозиготные по мутации *Disc1*-L100P и аллели дикого типа

L100P-hom – гомозиготные по мутации *Disc1*-L100P мыши

L(m)Q(f),L100P(f)/Q31L(m) – мыши, компаунд-гетерозиготы, содержащие в одной аллели мутацию *Disc1*-L100P от матери, а в другой – *Disc1*-Q31L от отца

LI (latent inhibition) – латентное торможение

mGluR – метаботропные глутаматные рецепторы

NMDAR –рецептор N-метил-d-аспартат-глутамата

PDE4B – фосфодиэстераза 4го типа

PPI (prepulse inhibition) – престаимпульное торможение реакции вздрагивания

Q31L-het – мыши, гетерозиготные по мутации *Disc1*-Q31L и аллели дикого типа

Q31L-hom – гомозиготные по мутации *Disc1*-Q31L мыши

Q(f)L(m), Q31L(f)/L100P(m) – мыши, компаунд-гетерозиготы, содержащие в одной аллели мутацию *Disc1*-Q31L от матери, а в другой – *Disc1*-L100P от отца

SNP (single nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм

STEP (striatal-enriched protein tyrosine phosphatase) – стриатум-специфичная протеин тирозинфосфатаза, кодируемая геном *PTPN5*

WT – мыши дикого типа, линия C57BL/6NCrl

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Поведение живых существ представляет сложный процесс ответа на факторы как внешней, так и внутренней среды, затрагивающий все уровни организации организма. В регуляции поведения задействовано множество внутриклеточных процессов, значительная часть которых универсальна для разных видов. В связи с этим изучение механизмов, от регуляции транскрипции генов до передачи сигналов между нейронами, лежащих в основе поведенческих реакций животных, широко применяется при исследовании молекулярно-генетических основ поведения людей. Так, моделирование психических расстройств человека на лабораторных животных является одним из ключевых методов в их изучении и широко используется для разработки новых методов профилактики и терапии, в том числе и фармакологических вмешательств. В связи с растущим объемом знаний о генетике психических расстройств все более важной задачей для нейрофизиологии и медицины становится выявление сложных, комплексных взаимодействий генов, сочетаний их аллелей и среды. Современные исследования на моделях, помимо выявленных генов-кандидатов, также фокусируются на генах нейроразвития, поскольку это позволяет изучать предполагаемые подходы к предупреждению заболевания. Не менее важным остается и поиск новых терапевтических методов лечения. В частности, в связи с часто встречающейся устойчивостью к применяемым препаратам и недостаточно эффективной, либо сопровождающейся побочными эффектами, терапии актуален и поиск новых фармакологических препаратов для лечения шизофрении и аффективных расстройств.

Одним из множества генов, ассоциированных с психиатрическими расстройствами у людей, является ген *DISC1* (Disrupted-In-Schizophrenia-1). Известно, что у людей максимальная степень его экспрессии в ЦНС приходится на пре-, неонатальный и пубертатный периоды жизни, то есть во время закладки, развития и активного изменения мозга. Доказано, что белок DISC1 взаимодействует и модулирует активность большого количества других клеточных белков, множество из которых играет важную роль в нейрогенезе, миграции и

росте нейронов, формировании дендритных шипиков, а также в сигнальной коммуникации внутри клетки и в синаптической пластичности (Camargo et al., 2007; Bradshaw & Porteous, 2012). Эти данные свидетельствуют о вовлеченности DISC1 в процессы нейрогенеза и нейропластичности (Brandon & Sawa, 2011), что обуславливает актуальность исследований по выявлению роли DISC1 интерактома в развитии психических расстройств, включая шизофрению, депрессию, биполярное аффективное расстройство и посттравматическое стрессовое расстройство. Такое разнообразное участие DISC1 в развитии мозга и его пластичности является предпосылкой для создания генетических моделей на лабораторных животных.

Генетическая архитектура шизофрении состоит из множества мультипликативно взаимодействующих между собой аллелей генов, ассоциированных с данным психическим расстройством (Jones & Faham, 2005; Wray & Visscher, 2010). Вероятность проявления шизофрении возрастает с увеличением количества таких аллелей риска. Таким образом, в патогенез шизофрении значительный вклад вносят генетические (внутренние) факторы и заболевание рассматривают преимущественно как сложное высокополигенное расстройство. К внешним факторам риска шизофрении, наряду со стрессогенными экологическими и социальными условиями, употреблением алкоголя и психоактивных веществ, относятся пре- и неонатальные воздействия. Так, некоторые состояния материнского организма во время беременности (например, активация иммунного ответа в организме матери (Clarke et al., 2009; Brown & Derkits, 2010), депрессия у матери (Mäki et al., 2010)) могут способствовать развитию шизофрении у плода во взрослом состоянии, особенно при взаимодействии этих состояний с генетическими факторами риска. Таким образом, шизофрения является мультифакторным заболеванием, предпосылки к которому складываются в процессе нейроразвития (Buka & Fan, 1999; Lewis & Levitt, 2002; Rabe-Jablonska, 2005; Коцюбинский и др., 2016).

Депрессия, с другой стороны, считается заболеванием, являющимся в большей степени результатом воздействия внешней среды (психотравмирующие события, недостаток сна, социально-экономические факторы, заболевания). Тем не менее, доказан и вклад наследственности. Считается, что предрасположенность к

депрессии определяется генетическими и психологическими факторами, а к её реализации приводят неблагоприятные внешние условия (Muñoz et al., 2012).

В целом, генетические и средовые факторы совместно оказывают влияние на патогенез как шизофрении, так и депрессии.

Ряд генетических моделей, созданных на основе мутаций в гене *Disc1* у грызунов, является подтвержденными моделями шизофрении и депрессии, в том числе линии мышей *Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L*, соответственно. С помощью сочетания у мышей двух обозначенных выше мутаций (компаунд-гетерозиготы *Disc1^{L100P/Q31L}*) можно определить закономерности их совместного влияния на проявления эндотипов шизофрении и депрессии у мышей, что ранее не было исследовано. В дополнение к этому, данная работа подразумевает отделение потенциального влияния матерей, несущих мутации *Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L* в гомозиготном состоянии, и проявляющих, соответственно, шизофрено- или депрессивноподобное поведение, что позволит выделить непосредственные эффекты данных мутаций, оказываемые на поведенческие особенности их потомков с двумя мутациями.

Современная гипотеза нейроразвития шизофрении предполагает наличие этиологических и патологических факторов задолго до манифестации заболевания, поэтому поиск новых потенциальных методов её превентивной коррекции становится все более актуальным. Благодаря такому подходу одним из направлений исследований стали полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). На основе проанализированной литературы можно заключить, что применение ω -3 ПНЖК возможно в качестве терапевтической профилактики при субпороговых психотических состояниях и после перенесенных травм или инсульта, для уменьшения риска развития заболевания (Amminger et al., 2015; Pawełczyk et al., 2016). Предполагаемые противовоспалительные свойства эйкозаноидов, синтезируемых организмом из ω -3 ПНЖК, и установленная взаимосвязь между нейровоспалительными процессами и развитием депрессии позволяют рассматривать ω -3 ПНЖК и в качестве потенциального антидепрессанта (Lang & Borgwardt, 2013; Husted et al., 2016; Trebatická et al., 2017).

Классическое действие антипсихотиков (АП) связано со снижением дофамина, однако тенденцией современной фармакологии является воздействие на

отдельные звенья патологического процесса. Стриатумспецифичная протеин тирозинфосфатаза (STEP), кодируемая геном *PTPN5*, является важным регулятором функции NMDAR (N-метил-d-аспартатных рецепторов), то есть принимает участие в глутаматной передаче сигналов, а экспрессируясь в дофаминергических нейронах – в передаче сигналов по ERK-пути, опосредованной рецепторами дофамина 2 типа (D2R). Также STEP участвует в регуляции развития дофаминергических нейронов, а нарушения её регуляции вовлечены в общий механизм когнитивных нарушений при различных заболеваниях. Таким образом, фермент представляется перспективной мишенью для направленного воздействия (Fitzpatrick & Lombroso, 2011). При шизофрении именно когнитивные симптомы хуже поддаются купированию современными антипсихотиками, поэтому актуальны исследования блокаторов STEP на моделях шизофрении в качестве потенциальных антипсихотиков. В данной работе проводится исследование одного из новых соединений ряда бензопентатиепинов (синтезированных в НИОХ СО РАН), способного блокировать STEP, на гомозиготных мышах линии *Disc1-L100P* (генетической модели шизофрении).

Цели и задачи работы

Целью данной работы является изучение влияния точечных мутаций L100P и Q31L в гене *Disc1* на особенности проявления эмоционального, социального и когнитивного поведения у гомозиготных и компаунд-гетерозиготных мышей обоих полов, в зависимости от генотипа матери, а также оценка эффекта диеты, насыщенной ω -3 ПНЖК, и введения блокатора STEP (стриатумспецифичной протеин тирозинфосфатазы) на поведение мышей с данными мутациями.

В соответствии с которой поставлены следующие задачи:

1. Исследование особенностей процесса угашения условной реакции пассивного избегания у гомозиготных мышей *Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L* обоих полов.
2. Изучение фенотипических особенностей проявления эмоционального, социального и когнитивного поведения у самцов и самок *Disc1*^{L100P/Q31L} с определением вклада генотипа матери.
3. Исследование эффекта диеты, насыщенной ω -3 ПНЖК, на поведение мышей *Disc1*^{L100P/Q31L}.

4. Оценка влияния блокатора STEP – стриатумспецифичной протеин тирозинфосфатазы – на поведение гомозиготных мышей *Disc1-L100P*.

Научная новизна

В работе впервые исследованы особенности угашения условной реакции пассивного избегания у мышей линий *Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L* и обнаружено более быстрое угашение реакции страха у самцов *Disc1-L100P*, задержка угашения у самок *Disc1-L100P* и более медленное угашение у самцов и самок *Disc1-Q31L*, вплоть до полного его отсутствия у последних.

Впервые экспериментально обоснована значимость моделей, несущих обе мутации (*Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L*) в гетерозиготном состоянии, для исследования превентивных подходов к предупреждению шизофрении и её лечению на раннем этапе.

Установлено, что у самцов и самок мышей, несущих обе мутации, наблюдается дефицит престаимпульного торможения реакции вздрагивания в случае, если их матери были гомозиготами по мутации *Disc1-Q31L*. Также впервые доказано дифференцированное влияние генотипа матери на компульсивноподобное поведение потомков разного пола. У самцов, чьи матери были гомозиготами по *Disc1-Q31L*, и у самок, чьи матери были гомозиготами по *Disc1-L100P*, усиливалось проявление компульсивноподобного поведения.

На компаунд-гетерозиготных мышах впервые показано, что диета, обогащенная ω -3 ПНЖК, оказывает корректирующее действие на проявления таких признаков шизофреноподобного поведения у самцов *Disc1^{L100P/Q31L}*, как дефицит PPI, до значений у мышей дикого типа, тогда как у самок она уменьшает количество спонтанных чередований в Т-образном лабиринте, свидетельствуя о нарушении рабочей памяти.

Впервые был установлен антипсихотический эффект блокатора STEP TC-2051 (соединения из ряда бензопентатиепинов, синтезированного в НИОХ) при его внутрибрюшинном введении в дозе 10 мг/кг гомозиготным мышам *Disc1-L100P* – увеличение PPI до контрольных значений и снижение гиперактивности этих мышей в открытом поле.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Фундаментальной ценностью данной работы является расширение знаний о сочетанном влиянии мутаций в гене *Disc1* на проявления шизофреноподобного поведения у мышей и исследование подходов к их коррекции: потребления корма, обогащенного ω -3 ПНЖК, и применения блокатора STEP, оказывающего антипсихотическое действие, на генетически детерминированной модели шизофрении (линия *Disc1*-L100P).

Практическая ценность полученных результатов заключается в возможности использования линии *Disc1*-Q31L в качестве потенциальной модели посттравматического стрессового расстройства и мышей *Disc1*^{L100P/Q31L} как модели для исследования превентивных подходов к предупреждению шизофрении и лечению на продромальной стадии расстройства, что актуально для трансляционной медицины. Также полученные результаты могут применяться при подготовке лекционных курсов по физиологии, патофизиологии, этологии и нейрогенетике в высших образовательных заведениях.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Мутации L100P и Q31L в гене *Disc1* вовлечены в угашение условной реакции пассивного избегания. Более быстрый его процесс отмечен у самцов линии *Disc1*-L100P, задержка характерна для самцов *Disc1*-Q31L, а у самок обеих линий показано отсутствие полного угашения за весь тестируемый период.

2. Сочетание в гетерозиготном состоянии двух мутаций L100P и Q31L в гене *Disc1* изменяет выраженность аффективных реакций – вызывает гиперактивность у самок в стрессорных условиях и усиливает компульсивность тех самок, матери которых гомозиготны по *Disc1*-L100P, и самцов, чьи матери гомозиготны по *Disc1*-Q31L. У компаунд-гетерозигот обоих полов, матери которых были гомозиготными по мутации *Disc1*-Q31L, снижено престаимпульное торможение реакции вздрагивания.

3. Диета, обогащенная ω -3 ПНЖК, восстанавливает нарушенный PPI у компаунд-гетерозиготных самцов, но не у самок, до соответствующих значений в контроле (дикий тип).

4. Блокада стриатумспецифичной протеин тирозинфосфатазы (STEP) у гомозиготных самцов мышей *Disc1*-L100P увеличивает PPI до значений,

демонстрируемых мышами контрольной линии, подтверждая связь STEP-опосредованных регуляций с когнитивным поведением.

Степень достоверности

Достоверность полученных результатов подтверждается тем, что научные положения и выводы обоснованы и получены с использованием системного подхода к решению поставленных задач. При формировании экспериментальных групп соблюдались правила рандомизации и достаточности выборок в соответствии с основными регламентами работы с лабораторными животными. Эксперименты проводились на высокотехнологичном оборудовании с использованием современных методов исследований. Полученные результаты были подвергнуты адекватному статистическому анализу.

Личный вклад автора в проведение исследования

Личный вклад автора состоит в получении экспериментальных групп животных, проведении всех поведенческих тестов и манипуляций с животными, статистической обработки данных.

Апробация работы

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на Международном форуме по когнитивным нейронаукам «Cognitive Neuroscience – 2019» (Екатеринбург, 2019), на IV Межрегиональном фестивале "Молодой профессионал Сибири" (Кызыл, 2019), на The Twelfth and Thirteenth International Multiconference «BIOINFORMATICS OF GENOME REGULATION AND STRUCTURE/SYSTEMS BIOLOGY (BGRS/SB-2020, BGRS/SB-2022)» (Novosibirsk, 2020, 2022), на 60-ой Международной научной студенческой конференции (МНСК-2022) (Новосибирск, 2022), на V Российской конференции с международным участием «Современные проблемы биологической психиатрии и наркологии» (Томск, 2023) и на XXIV съезде Физиологического Общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023).

Публикации

По материалам настоящего исследования опубликовано 6 статей в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, утвержденных ВАК Минобрнауки РФ.

1. **Чижова Н.Д.**, Липина Т.В., Амстиславская Т.Г. Характеристика поведения гетерозиготных мышей с мутациями L100P и Q31L в гене *Disc1* // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – Т. 3. (<https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-03-02>)
2. **Чижова Н. Д.**, Липина Т. В., Амстиславская Т. Г. Показатели функциональной активности нервной и иммунной систем у мышей с мутациями в гене *Disc1* // Российский Иммунологический Журнал. – 2019. – Т. 13 (22), № 2. – С. 638-640.
3. **Чижова Н. Д.**, Смирнова К. В., Дубровина Н. И., Липина Т. В., Амстиславская Т. Г. Половые и линейные различия между мышами *Disc1*-L100P и C57BL/6 в угашении условной реакции пассивного избегания // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2023. – Т. 73, № 3. – С. 425-432.
4. Смирнова К.В., **Чижова Н.Д.**, Амстиславская Т.Г. Влияние хронического эмоционально стрессового воздействия на поведение мышей с мутациями Q31L и L100P в гене *Disc1* // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2023. – Т. 1, № 118. – С. 104-113. ([https://doi.org/10.26617/1810-3111-2023-1\(118\)-104-113](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2023-1(118)-104-113))
5. Смирнова К. В., **Чижова Н. Д.**, Герасимова Е. В., Калуев А. В., Амстиславская Т. Г. Молекулярно-генетические механизмы регуляции циркадных ритмов и их роль в психопатологиях // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2023. – Т. 109, №10.
6. **Чижова Н.Д.**, Смирнова К. В., Дубровина Н. И., Калуев А. В., Амстиславская Т. Г. Особенности угашения памяти о страхе у самцов и самок мышей *Disc1*-Q31L // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2023. – Т. 110, №11.

Структура и объем диссертации

Диссертация включает в себя введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение, выводы и список литературы (159 источника). Общий объем составляет 95 страниц, в том числе 26 рисунков и 1 таблицу.

Благодарности

Автор выражает благодарность своему научному руководителю д.б.н. Амстиславской Тамаре Геннадьевне и коллегам: д.б.н. Т.В. Липиной, д.б.н. Н.И. Дубровиной, д.б.н. М.А. Тихоновой, к.б.н. М.В. Тендитнику, К.С. Павлову, К.В. Смирновой и С.А. Татауровой.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. *DISC1* (Disrupted-In-Schizophrenia-1)

1.1.1. Структура гена и белка

Ген *DISC1* находится на хромосоме 1q 42. У человека он включает около 415 кб ДНК. Состоит из 13 экзонов, транскрипты которых составляют приблизительно 7,5 кб в длину (Millar et al., 2000, 2001). Сравнительные и функциональные геномные исследования обнаружили гомологи *DISC1*, без гомологии с генами других белков, у ряда животных (макака, мышь, крыса, курица, собака и рыбы), что говорит о высокой степени консерватизма гена у различных видов (Ma et al., 2002; Taylor et al., 2003). В результате альтернативного сплайсинга *DISC1* может иметь различные транскрипты, причем установлено, что около 40 из них присутствуют в тканях головного мозга (Nakata et al., 2009).

1.1.2. Роль белка *DISC1* в функционировании ЦНС

Белок, кодируемый геном *DISC1*, содержит и С- (с биспиральной структурной последовательностью) и N-терминальный домен (содержащий сайт связывания с сигналом ядерной локализации и последовательность, обогащенную серином и фенилаланином), но не имеет 3х-мерной кристаллической структуры (Taylor et al., 2003; Soares et al., 2011).

DISC1 экспрессируется как во многих участках мозга, таких как зубчатая извилина гиппокампа, кора головного мозга, парагиппокампальная извилина, мозжечок, гипоталамус, амигдала и обонятельные луковицы (Ma et al., 2002; Miyoshi et al., 2003), так и в различных типах нейронов – в их аксональных окончаниях, дендритных шипиках, а также в пре- и постсинаптической мембранах (Kirkpatrick et al., 2006; Bradshaw et al., 2008; Ramsey et al., 2011; Maher & Loturco, 2012). Экспрессия *DISC1* внутри клеток максимальна в митохондриях, центросомах, цитоплазме, ядре, конусе роста и в дендритах (Ozeki et al., 2003; Brandon et al., 2004; James et al., 2004; Kamiya et al., 2005; Ogawa et al., 2005). Степень его экспрессии весьма изменчива в процессе развития ЦНС. Максимальных значений в головном мозге мышей она достигает на 13,5 эмбриональный день (E13.5) и 35 постнатальный день (P35) (Schurov et al., 2004). У человека экспрессия *DISC1* наиболее выражена в пре-, неонатальный и

пубертатный периоды жизни (Lipska et al., 2006). Все это позволяет говорить о вовлеченности этого белка в процессы нейрогенеза и нейропластичности.

В разных отделах клетки и на разных этапах нейроразвития DISC1 взаимодействует с множеством других белков. На сегодняшний день известно 127 таких белков и 158 их межбелковых взаимодействий, что составляет «DISC1 интерактом» (Camargo et al., 2007). Следовательно, DISC1 может действовать в клетке как скаффолдинг протеин, модулируя биоактивность взаимодействующих с ним белков. Множество из этих белков играет важную роль в таких аспектах нейроразвития, как нейрогенез, миграция и рост нейронов, формирование шипиков, а также в сигнальной коммуникации внутри клетки и в синаптической пластичности (Brandon & Sawa, 2011; Bradshaw & Porteous, 2012). При этом разные белки связываются с разными участками DISC1 (см. приложение 1), и, следовательно, даже изолированное изменение структуры этих участков (например, в результате точечных мутаций) приводит к разным нарушениям в регуляции передачи сигналов внутри клетки. Разнообразие же функций, выполняемых белками DISC1-интерактома, показывает, что при их нарушении затрагивается множество аспектов развития и функционирования ЦНС, что влечет за собой и изменения в поведении организма.

1.2. Психические расстройства, ассоциированные с геном *DISC1*

1.2.1. История открытия ассоциации психопатологий и *DISC1*

В 1970 году учёные из Эдинбургского университета, проводившие цитогенетическое исследование группы несовершеннолетних правонарушителей в Шотландии, обнаружили ненормальную транслокацию между первой и одиннадцатой хромосомой (t1:11) у одного из мальчиков, у которого также были обнаружены признаки аффективного расстройства (Jacobs et al., 1970). Было определено, что данная сбалансированная хромосомная транслокация приводит к переносу участка q42.1 из хромосомы 1 на участок q14.3 хромосомы 11. Наблюдение за семьей в течение 20 лет выявило большое число случаев серьезных психических расстройств, включая шизофрению и рецидивирующую депрессию, среди родственников с транслокацией пробанда (индивидуума, помещённого в основание выстраиваемого генеалогического древа), и выявило несколько случаев этих расстройств у родственников с нормальным кариотипом. Было обнаружено,

что 34 из 77 членов этой семьи являлись носителями этой же транслокации, а согласно критериям DSM-IV у 16 из них были диагностированы психические расстройства. При этом, однако, они также были выявлены у 5 из 43 человек, не являвшихся носителями этой транслокации. Психические расстройства, наблюдаемые в семье, варьировались от шизофрении и большого депрессивного расстройства до биполярного расстройства и расстройства поведения у подростков. Тогда было высказано предположение, что разрушение одного или нескольких генов в одной или около одной из точек разрыва повышает риск развития психоза в этой семье. Кроме того, у всех пациентов наблюдался и дефицит амплитуды вызванного потенциала P300, который является показателем обработки информации. Такие особенности характерны для пациентов с шизофренией и биполярным расстройством. Часть генеалогического древа этого шотландского семейства, с указанием статуса носительства и выявленными психиатрическими диагнозами, показана на рисунке 1 (Blackwood et al., 2001).

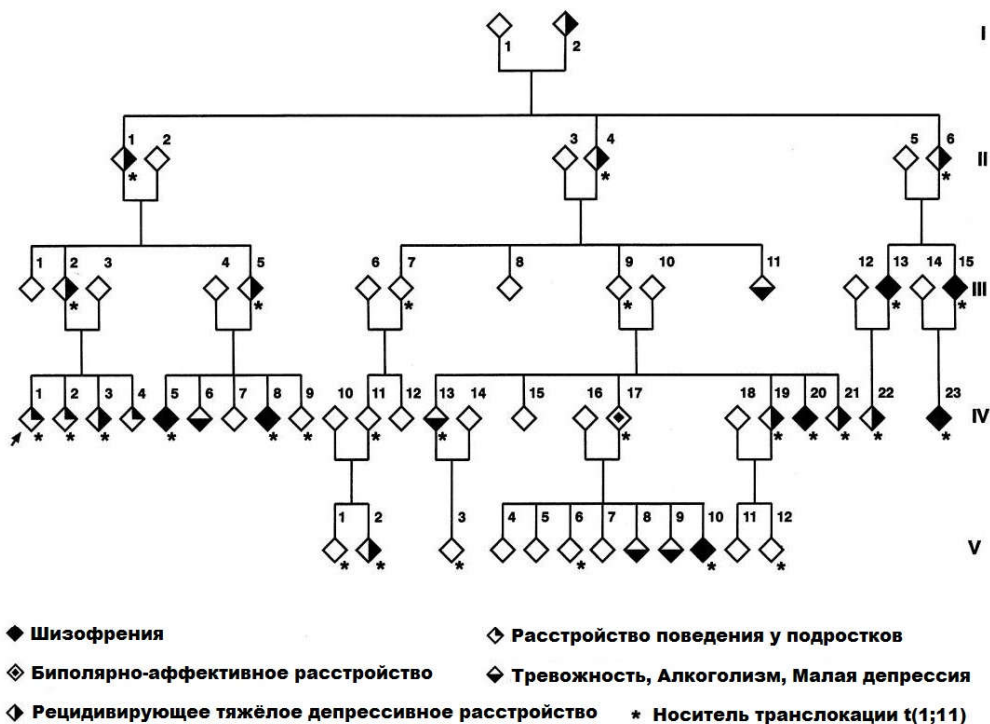


Рис. 1. Часть шотландского семейства с транслокацией (1; 11) (q42; q14.3). Показано 58 членов семьи, для которых известен статус носителя и чей психиатрический фенотип был определен при непосредственном собеседовании и, контакте с врачом общей практики или при рассмотрении истории болезни (из Blackwood et al., 2001).

Таким образом, только после изучения четырех поколений этой большой шотландской семьи, в 2000 году Millar et al. изолировали и секвенировали транслокацию (1:11)(q42.1;q14.3), обнаружив в результате два нарушенных ею гена. Им дали названия «Disrupted-In-Schizophrenia-1» и «Disrupted-In-Schizophrenia-2» («Нарушенный-при-шизофрении-1» и «-2», соответственно) – *DISC1* и *DISC2*. Предположение о том, что именно ген *DISC1* являлся причиной психических заболеваний в этой семье, было выдвинуто исследователями, поскольку наследуемая транслокация приходилась на место разрыва гена *DISC1*, между его 9 и 10 экзонами. В то же время ген *DISC2* кодирует только длинную одноцепочечную некодирующую антисмысловую молекулу РНК, являющуюся комплементарной к матричной РНК гена *DISC1*, предположительная роль которой заключается в регулировании экспрессии первого гена (Millar et al., 2004).

В дальнейшем генетические исследования показали ассоциацию *DISC1* с несколькими психическими расстройствами и когнитивными функциями в нескольких популяциях по всему миру (Chubb et al., 2008; Jaaro-Peled, 2009), в том числе ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) *DISC1* при шизофрении (Thomson et al., 2013).

1.2.2. Шизофрения

Этиология. Шизофрения является полиморфным психическим расстройством и характеризуется позитивными (галлюцинации, бред и расстройства мышления), негативными (пониженная мотивация, упрощение эмоциональных реакций, скудность речи, снижение социального функционирования) и специфическими когнитивными симптомами (дефицит исполнительных функций мозга, то есть неспособность усваивать и обрабатывать полученную информацию и принимать решения с ее учетом, нарушение концентрации внимания, дефицит кратковременной памяти), которые принято считать основными симптомами данного заболевания (Ross et al., 2006).

Выявлено множество генов, связанных с развитием этой психопатологии, при этом их аллели имеют различную степень риска развития заболевания и распространенность в популяциях. Следовательно, гены с высоким риском с большей вероятностью приведут к шизофрении, чем гены с низким риском. Тип их

взаимодействия может быть различным: возможен аддитивный эффект на фенотипы шизофрении (то есть каждый аллель добавляет определенную вероятность риска) или мультипликативный эффект (при этом необходимо наличие определенного количества или расположения локусов для достижения порогового значения, необходимого для проявления риска заболевания). Аддитивная модель не может полностью объяснить генетику шизофрении (Jones & Faham, 2005; Wray & Visscher, 2010). Таким образом, генетическая архитектура шизофрении представляется сложной системой, состоящей из мультипликативно взаимодействующих между собой тысяч аллелей, которые очень восприимчивы к общему генетическому фону, плейотропии и воздействию окружающей среды. При этом здоровые люди могут являться носителями относительно небольшого количества таких аллелей риска, но у людей с количеством аллелей, превышающим пороговое значение, возрастает вероятность проявления шизофрении (Wray & Visscher, 2010). Поскольку генетический фактор вносит значительный вклад в патогенез заболевания, шизофрению рассматривают как сложное высоко полигенное расстройство (Lewis & Levitt, 2002).

В отличие от других заболеваний нейроразвития, манифестация шизофрении обычно отмечается в юношеском возрасте (18-20 лет), что является более поздним периодом, чем, например, аутизм (3 года). Такое различие объясняется вовлечением в патофизиологию шизофрении нарушений, связанных и с патогенными факторами окружающей среды, и с генетической предрасположенностью, которые совместно нарушают постнатальное созревание головного мозга в течение нескольких лет, приводя к проявлению первых симптомов шизофрении после полового созревания (Buca & Fan, 1999). Также в качестве возможной причины такого «отсроченного» появления симптомов шизофрении предполагается нарушение компенсаторных механизмов в юношеском возрасте, которые не давали проявляться нарушениям на более ранних стадиях развития (Thomson & Levitt, 2010).

Нейробиологические механизмы. Существует несколько теорий, объясняющих причины возникновения шизофрении, в которых ведущую роль имеет дисбаланс нейротрансмиттеров. Дофаминовая теория, несмотря на широкую известность, на сегодняшний день имеет серьезные недостатки

(PrimCareCompanion J ClinPsychiatry, 2007; Leucht et al., 2009). У теории дефицита глутаматергической передачи в нейронах также есть множество обоснований, однако для создания антипсихотиков большей перспективностью обладает теория дисбаланса тормозных и возбуждающих нейронов, предполагающая участие в патогенезе шизофрении нескольких нейротрансмиттерных систем.

Согласно теории нейроразвития этиологические и патологические факторы данного заболевания возникают гораздо раньше, чем их клиническое проявление (Rabe-Jablonska, 2005). Основными этапами развития коры головного мозга являются пролиферация и миграция (главным образом, в пренатальный период жизни), формирование нейрональных путей и миелинизация (преобладают в постнатальный период, ~ до 20 лет). У больных шизофренией развитие головного мозга имеет некоторые особенности: сниженное развитие тормозных путей в ранний период, нарушения баланса между возбуждающими и тормозными системами в префронтальной коре и снижение миелинизации, что нарушает взаимосвязи нейронов. Нарушение созревания ГАМКергических интернейронов, дофаминергических нейрональных путей (особенно мезокортикальных), прунинг глутаматных синапсов, дифференциации олигодендроцитов и миелинизации также связано с шизофренией. Эта теория подтверждается, в том числе, доказанным влиянием материнского организма на развитие шизофрении.

Так, дети женщин, перенесших инфекционное заболевание во время беременности, несколько чаще страдают шизофренией во взрослом возрасте, и значительно чаще при наличии семейного генетического риска, что является классическим взаимодействием генотип-среда (Clarke et al., 2009; Brown & Derkits, 2010). Материнская иммунная активация (МИА), по-видимому, влияет на мозг плода посредством цитокинов, неспецифично поражающих предполагаемые инфекционные мишени, плаценту и плод. Примечательно также, что пренатальная материнская депрессия является еще одним фактором риска, который влияет на вероятность развития шизофрении во взаимодействии с генетической предрасположенностью (Mäki et al., 2010).

1.2.3. Депрессия

Этиология. Большое депрессивное расстройство – длительное психическое расстройство, характеризующееся «депрессивной триадой»: сниженное настроение

и утрата способности переживать радость, нарушения мышления, двигательная заторможенность. Пациенты могут чувствовать тревогу, безнадежность, быть взволнованными, раздражительными, беспомощными, могут потерять интерес к любым видам деятельности, ранее приятным; потеря аппетита или переедание, проблемы с концентрацией внимания и принятием решений. В целом, непосредственные симптомы депрессии приводят к ухудшению качества жизни и повышенному риску суицида (Wang et al., 2016).

Выделяются два класса факторов риска развития депрессии: специфический и неспецифический. Первые включают наличие родственников первой степени с депрессией, наличие симптомов депрессии, недостаточных для клинического диагноза, и проявления депрессогенных поведенческих паттернов или когнитивных стилей, а также наличие депрессии в анамнезе самого пациента (Muñoz et al., 2012). Однако заболевание может развиваться без психологических факторов – тогда говорят об эндогенной депрессии. Неспецифические факторы риска приводят к повышению частоты депрессии и других расстройств: нарушение сна, социальная изоляция, жестокое обращение с детьми и отсутствие заботы, инвалидность, связанная с медицинскими и неврологическими заболеваниями.

Также существуют связи между тревожным расстройством и депрессией, которые могут сочетаться у одного пациента, и быть вовлечены во взаимный патогенез, а также являться побочным результатом терапии антидепрессантами и анксиолитиками, соответственно. Имеются данные и о связи депрессии с нарушениями функционирования ряда систем организма, что связано с риском развития тяжелых расстройств, например, сердечно-сосудистых нарушений, болезни Альцгеймера, эпилепсии, диабета и рака (Lang & Borgwardt, 2013).

У животных показано депрессивноподобное поведение, вызванное социальным стрессом, при выученной беспомощности. В целом, генетические, эпигенетические и средовые факторы совместно оказывают влияние на патогенез депрессии (Hasler & Northoff, 2011).

Нейробиологические механизмы. Для объяснения механизма развития депрессии был выдвинут ряд гипотез. Моноаминовая теория утверждает, что развитие депрессии связано с дефицитом биогенных аминов – серотонина, норадреналина и дофамина (Петров и Сергеев, 2007). Известно, что классические

антидепрессанты (ингибиторы обратного захвата серотонина) действуют медленно и не помогают части пациентов, в связи с чем эту гипотезу часто критикуют (Lacasse & Leo, 2005). Уровень кортизола у пациентов с депрессией выше, что показывает ее связь со стрессом. В дальнейшем была предложена нейротрофическая гипотеза депрессии и действия антидепрессантов. Она постулирует связь депрессии с дефицитом BDNF (Вялова и Левчук, 2014). Эта теория также объясняет связь стресса и депрессии, так как стресс снижает экспрессию BDNF в структурах, вовлеченных в патогенез депрессии (Schmidt et al., 2008; Никифорова и Мазо, 2016).

Связь депрессии с нейровоспалением и способность некоторых антидепрессантов снижать уровни провоспалительных цитокинов и стимулировать продуцирование противовоспалительных цитокинов также представляет в последнее время значительный интерес в связи с накопившимися фактами, а также с точки зрения исследований о роли микроглии в патогенезе расстройства. Помимо этого, фактором риска развития депрессии является перенесенный инсульт (Старчина, 2012). На сегодняшний день депрессия считается клинически и этиологически гетерогенным расстройством.

1.2.4. Коморбидность шизофрении и депрессии

Не менее интересна и связь депрессии и шизофрении. Известен повышенный риск развития депрессии у пациентов с шизофренией (Buckley et al., 2009), а многие ее симптомы отмечаются на всех этапах течения шизофрении и продромальном состоянии (Häfner et al., 2013; Sönmez et al., 2013). Данную связь можно отметить и в обратном направлении. Так, у пациентов с депрессией риск развития психоза повышен, а у людей с высоким риском развития шизофрении еще до появления психотических симптомов часто наблюдается депрессия (Häfner et al., 1999, 2005; Yung et al., 2003; Schothorst et al., 2006).

Такая взаимосвязь рисков между шизофренией и депрессией предполагает возможное совпадение в патофизиологии и/или этиологии двух расстройств. Некоторые негативные симптомы (ангедония, абулия, алогия, амотивационные и аволиационные состояния и социальная абстиненция) наблюдаются при обеих данных патологиях (Siris et al., 1998).

Исследуются и общие генетические факторы риска. Например, полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) пяти основных психических расстройств в 2013 году показал, что SNP в хромосомных областях 3p21 и 10q24 и субъединицы генов кальциевых каналов *CACNA1C* и *CACNB2* были связаны, в том числе, с шизофренией и депрессией. Это и другие исследования указывают на существование общих молекулярных путей, лежащих в основе шизофрении и депрессии. Тем не менее, этиология и патогенез обоих этих расстройств остаются в большой степени неизученными. Модели на животных, сочетающие в себе проявления данных расстройств, могут внести вклад в понимание их нейробиологии.

1.3. Исследование шизофрено- и депрессивноподобного поведения в экспериментальных моделях психических расстройств

1.3.1. Критерии экспериментальной модели на животных

Экспериментальные модели на животных являются одними из лучших инструментов для изучения связи генов и поведения. Они широко используются при изучении различных психических расстройств (Arguello & Gogos, 2006; Desbonnet et al., 2009; Nestler & Hyman, 2010; O'Tuathaigh et al., 2013). Экспериментальные модели психических расстройств должны соответствовать следующим критериям (Willner, 1984):

- 1) происхождение, этиология – модель имеет те же биологические предпосылки дисфункций, что являются причиной заболевания у людей; это могут быть генетические мутации, факторы внешней среды;
- 2) внешние признаки, симптоматика – модель соответствует эндофенотипам исследуемого заболевания у людей;
- 3) нейробиология, структура – модель имеет схожие биологические нарушения (биомаркеры), отмечающиеся при этом заболевании у людей; это могут быть биохимические нарушения;
- 4) прогнозирование – модель имеет аналогичную реакцию на лекарственные препараты, применяемые в лечении данного заболевания у людей.

Психические заболевания обусловлены не только генетическими факторами, но рядом особенностей эндогенеза заболевания и онтогенеза данного человека, в том числе воспитание и среда, в которой он находится в зрелом возрасте. Известно,

что у здоровых родственников людей с психическими заболеваниями можно обнаружить особенности функционирования нервной системы, которые не заканчиваются болезнью. Для разделения сложных расстройств, в первую очередь психических, на более простые и стабильные промежуточные проявления, которые можно точно измерить, имеющие при этом доказанную генетическую связь с исследуемым заболеванием, была создана концепция эндофенотипа. Она помогает определить, что дает модель, при сопоставлении с заболеванием, для воспроизводства которого эта модель создавалась.

Основные критерии для правильного определения эндофенотипов были приведены в 1986 году:

- 1) ассоциирован с заболеванием в определенной популяции;
- 2) ассоциирован с заболеванием у членов одной семьи;
- 3) наследуется из поколения в поколение;
- 4) встречается с более высокой вероятностью у здоровых родственников больного, у которого был определен этот эндофенотип, по сравнению с общей популяцией;
- 5) его проявление не зависит от стадии заболевания.

Так как психиатрические расстройства состоят из сложных эндофенотипов и имеют гетерогенную этиологию, то модели на животных способны моделировать только некоторые эндофенотипы (Gershon et al., 1986).

1.3.2. Эндофенотипы шизофреноподобного поведения

Нейрофизиологические эндофенотипы шизофрении позволяют выявлять специфичные для шизофрении когнитивные нарушения, рассматриваемые в этом случае как признаки фенотипа. Значительные успехи в изучении природы шизофрении были достигнуты благодаря разработке специальных тестов, направленных на выявление когнитивного дефицита и его анализ в связи с нейробиологическими субстратами. Выделяют две основных линии исследований, которые привели к созданию тестов. Первое направление исследований – это изучение нарушений внимания и процессов обработки информации, которые рассматривают в качестве основы когнитивного дефицита при шизофрении (Bruff, 1993). Второе направление исследований связано с изучением лобной дисфункции при шизофрении. Лобная кора осуществляет управление и координацию

деятельности животного, а также, во взаимодействии с другими зонами коры и подкорковыми структурами, принимающими участие в обеспечении мотивации поведения и управлении движениями, обеспечивает фильтрацию сенсорных входов (Шульговский, 1993).

При исследовании шизофреноподобного поведения у мышей используется ряд общепринятых тестов для оценки эндофенотипов, объединенных в 3 группы:

- 1) позитивные симптомы шизофрении (гиперактивность);
- 2) негативные симптомы (мотивационный дефицит, социальная отчужденность, кататония/каталепсия);
- 3) когнитивные симптомы (дефицит престаимпульного торможения, латентного торможения, рабочей памяти, нарушение исполнительных функций головного мозга (внимания, решения проблем), когнитивная ригидность/мобильность).

Измерение двигательной активности животного может показать психомоторную ажитацию, сходную с проявляемой у пациентов с шизофренией, однако гиперактивность также наблюдается и при некоторых других расстройствах, а значит, данный тест не является маркером шизофрении. У многих животных, являющихся экспериментальными моделями шизофрении, наблюдается гиперактивность и в обычном состоянии, и в новой среде (Lipska и Weinberger, 2000).

В анамнезе пациентов присутствуют дефициты социального поведения – социальной памяти, социальной мотивации и эмпатии – осознанного сопереживания эмоциональному состоянию другого человека (Derntl et al., 2012; Olf et al., 2013; Tseng et al., 2013). Они не являются специфичным для шизофрении. Тем не менее, похожие аспекты социального поведения возможно оценить и у экспериментальных мышей с помощью ряда тестов.

Когнитивные симптомы шизофрении считаются ключевыми (Green, 1993; Elvevag и Goldberg, 2000), так как наблюдаются при всех подтипах шизофрении (Heinrichs & Awad, 1993). Согласно специальной программе CNTRICS (Cognitive Neuroscience measures of Treatment Response of Impaired Cognition in Schizophrenia) предлагается рассматривать основные домены когнитивного дефицита при шизофрении (Barak & Weiner, 2011):

- 1) внимание – способность удерживать внимание и/или менять фокус внимания в ответ на внешние раздражители;
- 2) исполнительные функции - создание правил, и их динамическое управление;
- 3) рабочая память – удержание цели и контроль внешних помех.

Рабочая память – это способность быстро формировать след памяти об уникальных событиях и отличать достоверную в настоящее время информацию от уже неактуальной (Zeng et al., 2001). Недостаточно гибкое поведение или усиление переключения от ранее принятого решения к новому могут привести к ее нарушениям (Crider et al., 1997).

Престимульное торможение реакции вздрагивания (prepulse inhibition, PPI) оценивает сенсорно-моторную фильтрацию информации. Тест основан на ослаблении реакции вздрагивания в ответ на более слабый раздражитель (престимул), который подается за короткое время (~100 мс) до основного стимула, моделируя процессы, предшествующие вниманию. Дефицит PPI наблюдается у больных шизофренией (Braff et al., 2001; Swerdlow et al., 1994), а степень его нарушения коррелирует с выраженностью симптомов заболевания (Swerdlow et al., 1994). Нарушения PPI обнаружены и у ряда генетических линий мышей, с мутациями в генах, кодирующих, к примеру, нейротрансмиттеры, нейропептиды и их рецепторы (Henry et al., 1999; Powell et al., 2008). Это тоже не является специфичным для шизофрении, так как наблюдается при других ментальных расстройствах (Swerdlow et al., 1994; Castellanos et al., 1996; Braff et al., 2001). Таким образом, для подтверждения у линии шизофреноподобного поведения, нужно применить более специфичные тесты.

Латентное торможение (latent inhibition, LI) отражает способность организма научиться игнорировать нерелевантные стимулы (Gray et al., 1992). Здоровое животное способно обучаться не обращать внимания на такой стимул, а в ситуации, когда он предъявляется в качестве подкрепления, обучение тормозится. Нарушение LI является хорошей моделью дефицита внимания в исследовании шизофрении, так как соответствует основным критериям модели для ее успешной трансляции. LI нарушено у больных шизофренией в острой фазе, а также у здоровых людей и

лабораторных грызунов под влиянием амфетамина (психомиметика) (Weiner et al., 1984, 1988, 1996; Gray et al., 1992; Rasclé et al., 2001).

1.3.3. Эндофенотипы депрессивноподобного поведения

Многие симптомы депрессии трудно воспроизвести на лабораторных животных, но ряд используемых моделей в разной степени соответствуют (Hasler et al., 2004; Vogel et al., 2008) перечисленным выше критериям. У животных это проявляется в таких симптомах как:

1) Ангедония: потеря интереса к жизни, неспособность радоваться – основной симптом депрессии; у грызунов оценивается с помощью теста на предпочтения сахарозы или с использованием метода самостимуляции латерального гипоталамуса;

2) Поведенческое отчаяние: оценивается по реакции иммобилизации в тестах принудительного плавания или подвешивания за хвост;

3) Изменение аппетита или увеличение массы тела: депрессия часто бывает связана с изменением аппетита и увеличением массы тела, что легко измерить у животных;

4) Нейроанатомические изменения: у грызунов при воздействии хронического стресса или при избытке глюкокортикоидов моделируется уменьшение объема гиппокампа; при этом наблюдаются сходные признаки – его атрофия и потеря нейронов и дендритов;

5) Нейроэндокринные нарушения: нарушения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси также является симптомом депрессии;

6) Изменения структуры сна: нарушения циркадного ритма и структуры сна часто наблюдаются у пациентов с депрессией; у грызунов оцениваются с помощью ЭЭГ;

7) Изменение поведения, вызванное беспокойством: тревога является одним из наиболее распространенных симптомов депрессии и хорошо регистрируется у животных на установке «приподнятый крестообразный лабиринт».

1.3.4. *Disc1*-генетические модели шизофрении и депрессии

На основе известной межхромосомной транслокации t(1:11), приводящей к укороченной форме *DISC1* (Millar et al., 2000), были созданы несколько

генетических линий мышей, экспрессирующих укороченную форму *Disc1* в коре головного мозга. Наиболее общим эндофенотипом для этих линий мышей является гиперактивность (Hikida et al., 2007; Pletnikov et al., 2008) и повышенная чувствительность к амфетамину (Ayhan et al., 2011). Это говорит о том, что *Disc1* непосредственно регулирует дофаминергическую систему головного мозга (Niwa et al., 2010; Ayhan et al., 2011). Специфическая при данном заболевании гипофункциональность кортикальных областей мозга вызывала дефицит рабочей памяти (Li et al., 2007) и дефицит PPI (Hikida et al., 2007; Niwa et al., 2010), без влияния на долговременную память или пространственное обучение.

В 2007 году были созданы две мутантные линии, несущие точечные мутации во 2м экзоне гена *Disc1*: *Disc1-Q31L* и *Disc1-L100P*, в результате чего межбелковые взаимодействия синтезируемого белка с PDE4B и GSK-3, а также их ферментативная активность были нарушены в разной степени (Clapcote et al., 2007; Lipina et al., 2011, 2012). Первоначально эти линии были идентифицированы при обратном скрининге 2го экзона *Disc1*, после обработки генома химическим мутагеном ENU (N-ethyl-N-nitroso-Ureum; N-нитрозо-N-этилмочевина) (Clapcote et al., 2007).

Мыши линии *Disc1-L100P* (замещение лейцина на пролин в позиции 100 аминокислоты) показали шизофреноподобное поведение (дефицит PPI, LI и рабочей памяти, гиперактивность, повышенная чувствительность к амфетамину), что нормализовалось антипсихотиками, но не антидепрессантами (Clapcote et al., 2007). Найдено повышенное взаимодействие с дофаминовыми рецепторами 2го типа (D2R) (Su et al., 2014), а в отделах ствола головного мозга выявлена усиленная экспрессия глиотрансммиттера липокалина-2. В стриатуме выявлена повышенная плотность D2R, повышенная чувствительность к дофамину, а также повышенная активность гликогенсинтазкиназы 3-го типа (GSK-3), которая сопровождалась сниженным взаимодействием белка *Disc1-L100P* с GSK-3 и фосфодиэстеразой 4-го типа (PDE4B). Данная мутация приводит к снижению ГАМКергических интернейронов в коре и гиппокампе, сниженной плотности дендритных шипиков и миграции нейронов и вставочных нейронов коры в процессе нейроразвития, повышенной плотности астроцитов в области рострального миграционного тракта и в субвентральной части мозга – на фоне сниженного на 13% объема головного

мозга. Шизофреноподобное поведение мышей *Disc1-L100P* корректировалось клозапином (атипичный антипсихотик), TDZD-8 (блокатор GSK-3), ролипрамом (блокатор PDE4B) и пептидом, разрывающим межбелковые взаимодействия между DISC1 и D2R. Благодаря экспериментам с этой линией удалось выявить новые молекулярно-клеточные механизмы шизофрении в условиях эксперимента, подходящих для трансляции в клинику, в том числе для ранней диагностики, создания новых антипсихотиков и в превентивной терапии (Lipina & Roder, 2014).

Мыши линии *Disc1-Q31L* (замена глицина на лейцин в позиции 31 аминокислоты) проявляли депрессивноподобное поведение («поведенческое отчаяние», пониженное предпочтение сахарозы, недостаток социального поведения), что корректировалось антидепрессантом (бупропион), но не антипсихотиком (клозапин). Также было показано, что гомозиготные самцы с мутацией *Disc1-Q31L* проявляют компульсивноподобное поведение в тесте на закапывание шариков (Смирнова и др., 2020). Выявлена пониженная активность PDE4B и повышенная – GSK-3, при этом взаимодействие белка *Disc1-Q31L* с GSK-3 отсутствовало, а с PDE4B – было снижено. В прилежащем ядре головного мозга у мышей линии *Disc1-Q31L* обнаружено пониженное содержание основных моноаминов (серотонин, дофамин, норадреналин) и сниженная плотность дендритных шипиков, а объем их головного мозга также был несколько снижен (на 6% от контроля). Показана эффективность антидепрессанта бупропиона и блокатора GSK-3 в снижении проявлений депрессивного поведения (Clapcote et al., 2007; Lipina et al., 2012, 2013; Lipina и Roder, 2014).

Мыши линий *Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L* были исследованы в тесте на выработку условной реакции пассивного избегания (УРПИ) (Дубровина и др., 2017). У мышей *Disc1-L100P* независимо от пола и возраста нарушено ассоциативное обучение. У мышей *Disc1-Q31L* формирование следа памяти о страхе происходит только у молодых самцов. При этом процесс угашения УРПИ изучен не был. Данная характеристика отражает с одной стороны долговременную память, а с другой связано с тревожностью, таким образом она может быть нарушена как при шизофрении, так и при депрессии.

Данные точечные мутации приблизительно соответствуют обнаруженным у людей вариантам гена *DISC1* S90L и R37W (*Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L* у мышей,

соответственно), при которых замена аминокислот так же приходится на области взаимодействия белка с GSK-3 и PDE4 (Bord et al, 2006, Soares et al, 2011).

1.4. Терапевтические подходы в лечении шизофрении и депрессии

Шизофрения. Фармакологическое вмешательство получило достаточную эмпирическую базу, подтверждающую его эффективность в предотвращении заболевания или задержке перехода от продромального состояния к психозу. Разнообразные психофармакологические соединения могут обладать эффективностью для подавления шизофрении, включая антипсихотические препараты второго поколения, такие как рисперидон, антидепрессанты, такие как ингибиторы обратного захвата серотонина, стабилизаторы настроения, такие как литий и вальпроат, и антиансиолитики (противотревожные препараты), такие как бензодиазепины, но лишь немногие из них были проверены на такую роль. Например, рисперидон продемонстрировал перспективу в предотвращении развития шизофрении у индивидуумов в продромальной стадии заболевания. Превентивное воздействие на моделях тоже может быть эффективно, например, профилактическое введение вальпроата снижало проявления шизофреноподобного поведения у мышей линии *Disc1-L100P* (Lipina et al., 2012).

Используемые в настоящее время антипсихотики достаточно эффективно ослабляют позитивные симптомы шизофрении, значительно улучшая жизнь многих пациентов и позволяя добиться ремиссии, однако они не излечивают шизофрению (а, следовательно, принимаются пациентами длительное время) и имеют много побочных эффектов. Гетерогенность заболевания и устойчивость многих пациентов к применяемой терапии часто приводят к тому, что препараты для лечения конкретного случая подбираются длительное время и иногда лучшим выбором может быть комбинация препаратов – при этом возрастает и количество нежелательных реакций. Таким образом, частота неэффективного, либо сопровождающегося тяжелыми побочными эффектами лечения, представляет вызов для поиска новых лекарственных препаратов в лечении шизофрении (McCutcheon et al., 2019; Potkin et al., 2020).

Депрессия. В качестве мер по предупреждению развития депрессии у населения предлагаются профилактические мероприятия в группах риска: подростки, женщины во время беременности и после родов и т.п. (Muñoz et al.,

2012). Уменьшение влияния стрессовых жизненных событий в детстве (Sandler et al., 2010) также положительно влияет на психо-эмоциональное состояние и устойчивость к депрессии. При данном подходе эффективны образовательные мероприятия и психотерапия, в частности когнитивно-поведенческая или межличностная психотерапия, а в остальном эффективны фармакологические вмешательства, изменение образа жизни и питания (Cuijpers et al., 2008).

Постинсультной депрессии уделяется все большее внимание в терапии расстройств, сопутствующих ишемическому инсульту, ведется разработка наиболее эффективного комплекса мероприятий по её предотвращению (Старчина, 2012). Антидепрессанты показаны пациентам, перенесшим инсульт, при наличии симптомов умеренной и тяжелой депрессии, что связано с оценкой рисков от побочных эффектов.

«Идеальный» антидепрессант должен обладать минимальным лекарственным взаимодействием, эффективностью в минимальных дозах, хорошей переносимостью, возможностью применения при коморбидных заболеваниях и быстрым началом действия (Ramasubbu, 2011). В последнее время проведено множество исследований эффективности применения антидепрессантов (флуоксетин, сертралин, нортриптилин) для профилактического лечения еще не возникшей депрессии у постинсультных больных (Narushima et al., 2002; Rasmussen et al., 2003; Ramasubbu, 2011), однако лучшую эффективность и соответствие обозначенным требованиям показывает эсциталопрам (ципралекс) (Robinson et al., 2008; Jorge et al., 2010; Mikami et al., 2011).

1.4.1. Полиненасыщенные жирные кислоты

Жирные кислоты (ЖК) – это молекулы, состоящие из длинных линейных цепочек атомов углерода с кислотной группой COOH на одном конце. У ненасыщенных ЖК имеется двойная связь между атомами C в цепочке; ПНЖК имеют две или больше таких связей и классифицируются по месту нахождения $\text{C}=\text{C}$ в цепочке: соседний с кислотной группой атом – α , атом на противоположном (метиловом) конце молекулы – ω (от него отсчитывается положение двойной связи); кислоту относят к определенной группе ω -кислот в зависимости от расположения первой $\text{C}=\text{C}$ связи.

Наиболее важными среди ω -3 ПНЖК них являются альфа-линоленовая кислота (ALA), эйкозапентаеновая кислота (EPA) и докозагексаеновая кислота (DHA) (Innis, 2007): организм человека не способен синтезировать эти ЖК из более простых веществ, но может получать их из пищи. При этом EPA и DHA могут быть синтезированы с низкой эффективностью (Burdge & Calder, 1998; Gerster, 1998; Brenna, 2002) из более короткой ALA, получаемой из растительной пищи. Этот процесс замедляется в присутствии ω -6 ЖК. Таким образом, ALA можно считать предшественником ω -3 кислот в животной клетке, однако наиболее эффективное накопление длинноцепочечных EPA и DHA в тканях происходит: а) непосредственно при их поступлении из пищи; б) при низких уровнях конкурирующих ω -6 ЖК.

Некоторые ферменты способны превращать арахидоновую кислоту, относящуюся к ω -6-ПНЖК, в воспалительный агент – простагландин E_2 , который одновременно ускоряет иммунный ответ и заживление травмированных или инфицированных тканей и вызывает ощущение боли (Bergstrom et al., 1964). Такие производные относят к эйкозаноидам.

Эйкозаноиды синтезируются из ЖК и обычно быстро метаболизируются ферментами. Синтезируемые из ω -3-ПНЖК эйкозаноиды, вызывают меньше воспалительных эффектов по сравнению с ω -6-эйкозаноидами, но синтезируются гораздо медленнее. Соотношение ω -3- и ω -6-ПНЖК влияет на тип эйкозаноидов, синтезируемых организмом (Lands, 1992). Известно противовоспалительное действие EPA и DHA. Наиболее простой способ снижения синтеза ω -6-эйкозаноидов – потребление большего количества ω -3-ПНЖК.

1.4.2. Использование омега-3 ПНЖК при терапии шизофрении и депрессии

В настоящее время обсуждается, имеют ли ω -3 ПНЖК противовоспалительные, антитромбогенные и антиатеросклеротические свойства. В нескольких исследованиях были обнаружены значительно более низкие уровни DHA в мозге людей с психическими или неврологическими расстройствами, в частности шизофрении, депрессии и биполярным аффективным расстройством (Hamazaki et al., 2013; Müller et al., 2015; Ghosh et al., 2017).

Кратковременное (в течение 12 недель) употребление ω -3 ПНЖК в дополнение к основному лечению молодыми людьми с субпороговыми психотическими состояниями снижало риск развития психотического расстройства в течение длительного периода – медианно 6-7 лет (Amminger et al., 2015). 6-месячное употребление ω -3 ПНЖК также может быть дополнительной терапией, способной снижать интенсивность симптомов и улучшать уровень функционирования пациентов с шизофренией (Pawełczyk et al., 2016).

Существуют данные в пользу применения ω -3 ПНЖК при лечении депрессии (Lang & Borgwardt, 2013; Husted et al., 2016; Trebatická et al., 2017), в частности результаты исследований о влиянии ω -3 ПНЖК на иммуномодуляцию, трансдукцию сигнала, нейротрансмиссию и нейропротекцию. Нет сведений о неблагоприятных взаимодействиях ω -3 ЖК с лекарственными средствами, поэтому они считаются безопасными для пациентов с беременностью, у детей, а также для пациентов с сердечно-сосудистыми, иммунологическими или онкологическими заболеваниями (Su et al., 2015). Исследователи выделяют несколько потенциальных механизмов действия ω -3 ПНЖК на ЦНС.

Нейропротекция. Мозг отличается высоким потреблением кислорода и содержит много липидов (в том числе с двойными связями, способными увеличить количество радикалов в клетке) и считается очень восприимчивым к окислительному стрессу (ОС) или редокс-дисбалансу. Действительно, ОС связан с рядом психических расстройств, включая депрессию, тревожные расстройства, шизофрению и биполярное расстройство, однако причинно-следственная связь между ними не полностью определена (Salim, 2014). Известно, что нейропротектин D1, синтезируемый из ДНА, защищает клетки от апоптоза, вызванного ОС (Bazan, 2005). На модели крыс с аудиогенной эпилепсией (линия Крушинского-Молодкиной) было показано, что ЖК-состав мембран нейронов после судорожного припадка изменялся, в том числе в связи с выработкой нейропротектина D1 и каннабиноидов (Kulagina et al., 2017). При введении ДНА беременным крысам, удалось спасти мозговую ткань крысят от последствий ОС за счет усиления абсорбирования свободных радикалов (Yavin, 2006).

В связи с присутствием в патогенезе шизофрении ОС (Bošković et al., 2011), ДНА и ЕНА, благодаря антиоксидативным свойствам, можно рассматривать как

фактор, снижающий негативные последствия для мозга. При исследовании пациентов с шизофренией было показано, что у больных более высокие уровни перекисного окисления липидов по сравнению со здоровыми, но эти значения были выше у мужчин (и больных и здоровых), нежели у женщин. На этом основании можно сделать вывод, что мужчины могут страдать от большего окислительного стресса нейронов, чем женщины, и что это может ухудшить течение болезни и привести к большей степени тяжести заболевания, что, в целом, соответствует имеющимся статистическим данным (Ramos-Loyo et al., 2013).

Нейровоспаление присутствует в большинстве острых и хронических неврологических расстройств. Считается, что избыточное или продолжительное воспаление в ГМ усугубляет повреждения и вызывает потерю нейронов, связанных с активацией микроглии и астроцитов, а также с высвобождением активных форм кислорода и цитокинов. Определение модуляторов нейровоспаления является активной областью исследования, поскольку она может привести к разработке новых методов лечения. В целом, показаны защитные эффекты ω -3 ПНЖК на анимальных поведенческих моделях при инсульте, старении, депрессии, болезни Паркинсона, диабета и когнитивных нарушениях, вызванных цитокинами и облучением. Ω -3 ПНЖК являются противовоспалительными агентами во многих других тканях, но их роль в нейровоспалении менее изучена (Trépanier et al., 2016), в частности, строгие исследования, которые проверяют прямое действие ω -3 ПНЖК при нейровоспалении *in vivo*, отсутствуют. Предполагается, что ω -3 ПНЖК проявляют противовоспалительные свойства посредством метаболитов, однако всестороннее липидомическое профилирование во время нейровоспаления пока не сообщалось в литературе. Такие соединения могут обеспечить новые терапевтические мишени для психических расстройств (Orr et al., 2013; Vauzour et al., 2015).

Одной из важных функций микроглии в ЦНС заключается в противодействии инфекциям и болезням ГМ, фагоцитозе и секреции факторов для изменения прогрессирования заболевания. Обнаружено, что микроглия важна также и для нормального развития мозга и синаптической пластичности, играя, по-видимому, одну из ключевых ролей во всех процессах, от физиологии до патологии. Эта особенность микроглии определяется широким спектром рецепторов для

определения молекулярных структур, включая рецепторы большинства нейротрансмиттеров, нейромодуляторов и пуринов. Биологически активные ЖК могут проникать сквозь гематоэнцефалический барьер, достигая ЦНС. Они, предположительно, могут являться прямыми модуляторами микроглиальной активности, усиливать/ингибировать воспалительные процессы и/или способность этих клеток реагировать на опасные агенты (Nadjar et al., 2017).

Подтверждена связь между депрессией и воспалительными процессами, вероятно, даже двунаправленная. Например, в лечении депрессии показали эффективность нестероидные противовоспалительные препараты и ингибиторы цитокинов. Статины, ПНЖК, пиоглитазон, миноциклин, модафинил и кортикостероиды могут также оказывать антидепрессивный эффект. Однако сложность воспалительного каскада, ограниченные клинические данные и риск побочных эффектов предполагают осторожность при их клиническом применении в качестве лекарственных препаратов (Köhler et al., 2016).

Изменение экспрессии генов. Показано, что при пре- и постнатальном (до половозрелости) содержании крыс на диете, богатой рыбьим жиром, ω -3 ПНЖК могут модулировать экспрессию многочисленных генов в мозге (Kitajka et al., 2002; Jayasooriya et al., 2005). Дефицит ω -3 ПНЖК влияет на животных – в ранний период развития ЦНС у мышей он может моделировать продромальное состояние шизофрении посредством изменений эпигенетической регуляции генов ядерных рецепторов (Maekawa et al., 2017). В ряде исследований показано, что такой дефицит нарушал экспрессию белков, связанных с дофамином (Bondi et al., 2014), и вызывал снижение уровней дофаминовых рецепторов, в том числе и D2-, на пресинаптических мембранах ПФК (Ohara, 2007).

Нейропластичность. Ω -3 ПНЖК необходимы для развития и функционирования нервной системы. В качестве ключевых компонентов ткани ГМ ω -3 ПНЖК играют решающую роль в развитии и функционировании мозга. Ω -3-ПНЖК усиливают синтез и передачу сигналов BDNF в нейронах, а также влияют на каннабиноид-опосредованную синаптическую пластичность. В целом, влияние состава липидных мембран в мозге и производных ω -кислот многофакторно (Knöchel et al., 2015).

1.4.3. Стриатумспецифичная протеин тирозинфосфатаза (STEP)

Фермент STEP (striatal-enriched protein tyrosine phosphatase; стриатумспецифичная протеин тирозинфосфатаза) кодируется геном *PTPN5* (*protein tyrosine phosphatase non-receptor type 5; нерецепторная протеин тирозинфосфатаза 5 мина*). STEP имеет две изоформы – цитозольную STEP46 и мембранную STEP61, которые в высокой степени экспрессируются в стриатуме, тогда как в гиппокампе и коре присутствует только STEP61. Эта фосфатаза является важным регулятором функции NMDAR (N-метил-d-аспартатных рецепторов), то есть участвует в глутаматной передаче сигналов, а экспрессируясь в дофаминергических нейронах, участвует в передаче сигналов по ERK-пути, опосредованной рецепторами дофамина 2 типа (D2R), и вовлечена в регуляцию развития дофаминергических нейронов (Kim et al., 2008).

Согласно литературным данным нарушения активности STEP вовлечены в развитие ряда нейропсихиатрических и нейродегенеративных заболеваний, сопровождающихся значительными когнитивными нарушениями, таких как болезнь Альцгеймера, шизофрения, болезнь Хантингтона и синдром ломкой X-хромосомы. Также существуют доказательства в пользу связи дисрегуляции STEP с когнитивными нарушениями при злоупотреблении алкоголем и при поражении головного мозга инсультом или ишемией (Fitzpatrick & Lombroso, 2011). Исходя из вышеперечисленного можно говорить о вовлеченности нарушений регуляции STEP в общий механизм когнитивных нарушений при различных заболеваниях.

Большинство современных исследований STEP сосредоточены на изучении её вовлечения в механизмы развития болезней Альцгеймера и Хантингтона, а работы, посвященные ингибированию данной фосфатазы, проводятся на моделях этих заболеваний. Тем не менее, изучаются и другие связанные с когнитивными нарушениями психопатологии, в том числе и шизофрения. Так, генетическая редукция или фармакологическое ингибирование STEP у гетерозиготных по *Neuregulin-1* мышей ($Nrg1^{+/-}$), являющихся моделью шизофрении, предотвращает потерю NMDAR в синаптических мембранах и восстанавливает поведенческие нарушения. Другая модель шизофрении на мышах – специфичный для центральной нервной системы нокаут ErbB2/B4 (рецепторов Nrg1), – как и $Nrg1^{+/-}$, показывает увеличение уровня белка STEP61 в лизате коры головного мозга (Xu et al., 2018). У

мышей линии C57BL/6, получавших психотомиметики диэтильпин и фенциклидин (антагонисты NMDAR, вызывающие шизофреноподобное поведение), также повышался уровень STEP61 во фронтальной коре, при этом у мышей с нокаутом STEP острые (локомоторные) и хронические (когнитивные) эффекты этих препаратов были менее выражены (Carty et al., 2012).

Посмертные исследования мозга пациентов с шизофренией показали повышенный уровень STEP61 в передней поясной коре и дорсолатеральной префронтальной коре (Carty et al., 2012). Анализ уровней фосфатазы в клетках человека был также проведен на индуцированных нейронах мозга человека, полученных из плюрипотентных стволовых клеток (hiPSC) и на индуцированных Ngn2 возбуждающих нейронах, взятых у пациентов с шизофренией; получен аналогичный результат (Xu et al., 2018).

Такие экспериментальные данные свидетельствуют об увеличенной экспрессии STEP61 при шизофрении. Упомянутая ранее глутаматная теория шизофрении предполагает, что нарушения глутаматергической передачи сигналов в нейронах, осуществляемая через NMDA-рецепторы, способствуют наблюдаемым поведенческим и когнитивным дефицитам. Данная нейротрансмиттерная система необходима в том числе и для синаптической пластичности, но, как и в случае дофаминовой передачи сигнала согласно дофаминовой теории шизофрении, её нарушения также связаны с развитием заболевания. Одним из возможных источников нарушения глутаматергической функции при шизофрении является снижение поверхностной экспрессии субъединиц NMDA-рецепторов (GluN1, GluN2B и GluA2) (Goebel-Goody et al., 2012; Karasawa & Lombroso, 2014). Так повышенный уровень STEP61 снижает синаптическую экспрессию GluN2B-содержащих NMDA-рецепторов посредством двух механизмов:

- 1) дефосфорилирование GluN2B по Tyr 1472;
- 2) дефосфорилирование и инактивация киназы Fyn по Tyr 420, которая в свою очередь также фосфорилирует GluN2B по Tyr 1472.

С другой стороны, дофаминовая система регулирует активность STEP61 и, следовательно, NMDAR передачу. Стимуляция D1R активирует протеинкиназу A и приводит к фосфорилированию STEP61 по Ser221 в субстрат-связывающем домене KIM, тем самым предотвращая взаимодействие STEP61 с его субстратами и их

дефосфорилирование. Когда STEP61 фосфорилируется в этом сайте или у мышей с нокаутом по STEP, фосфорилирование тирозина субстратов STEP61 и поверхностная экспрессия GluN1/GluN2B-содержащих рецепторов увеличиваются (Kim et al., 2008; Fitzpatrick & Lombroso, 2011). На рисунке 2 представлена схема регуляции фосфорилирования STEP и его участие в молекулярных путях глутаматергической и дофаминергической системах.

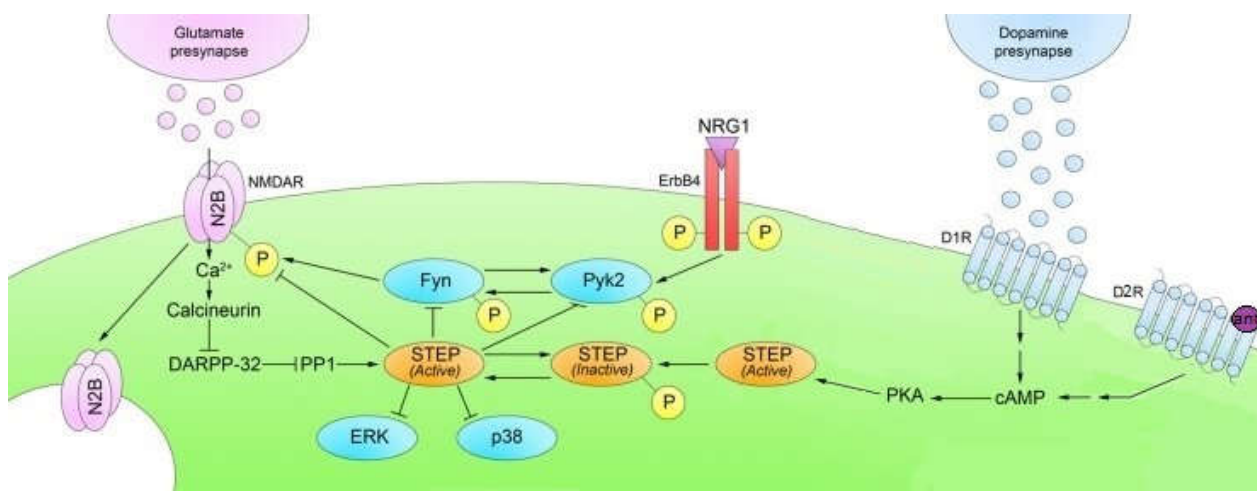


Рис. 2. Регуляция фосфорилирования STEP. Связь с путями передачи сигналов от дофаминовых и глутаматных рецепторов (из Fitzpatrick & Lombroso, 2011).

Основное действие АП связано со снижением дофамина, однако тенденцией современной фармакологии является точечное воздействие на ключевые звенья патологического процесса. Эти результаты свидетельствуют о том, что инактивация STEP61 может быть использована при поиске новых подходов в лечении шизофрении, в связи с чем представляется актуальным исследование влияния блокаторов STEP у мышей в качестве предполагаемого антипсихотика. Кроме того, вывод о связи нарушений активности STEP и когнитивных нарушений при психопатологиях также может являться основанием для повышенного интереса к данному ферменту в качестве мишени при лечении шизофрении, поскольку, как описывалось ранее, именно когнитивные симптомы шизофрении хуже поддаются купированию современными антипсихотиками.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Экспериментальные животные

Опыты проводили на 3-3,5 месячных мышах четырех генотипов: самцы и самки, гетерозиготные по *Disc1*-L100P (L100P-het), *Disc1*-Q31L (Q31L-het), компаунд-гетерозиготы *Disc1*^{L100P/Q31L} (L100P/Q31L), содержащие в одной аллели мутацию *Disc1*-L100P, а в другой – *Disc1*-Q31L (две группы в зависимости от генотипа матери: гомозиготы по *Disc1*-L100P или *Disc1*-Q31L; соответственно, группы L100P(f)/Q31L(m) или Q31L(f)/L100P(m)) и мыши линии *C57BL/6NCrl* (дикий тип, WT). Также в ряде экспериментов (угашение УРПИ; введение STEP-блокатора) использовались гомозиготные мыши данных линий. Для получения данных экспериментальных групп были взяты гомозиготные мыши двух мутантных линий и дикого типа из УНУ «Биологическая коллекция – генетические биомодели нейropsychических заболеваний» (№ 493387) НИИ физиологии и фундаментальной медицины (Петрова и др., 2018). Данная схема скрещивания (рис. 3) позволила определить влияние матерей (пренатальное воздействие материнского организма и постнатальное родительское поведение) на поведение компаунд-гетерозиготных мышей. Из родительских клеток мышей отсаживали в возрасте ~1 месяца в аналогичные клетки по 4-7 особей, отдельно по полу.



WT (дикий тип) – мыши линии C57BL/6

Рис. 3. Схема получения экспериментальных групп гетерозиготных мышей с мутациями в гене *Disc1* и контрольных.

Животные содержались в виварии НИИ нейронаук и медицины в пластиковых клетках (OptiMice Biotech A.S.; 34×29×15 см) со световым режимом 12:12 (свет – с 6:00 ч, темнота – с 18:00 ч) при температуре около 23°C. Корм и воду животные получали в неограниченном количестве (в эксперименте с ω -3-ПНЖК-обогащенной диетой корм предоставляли в количестве, превышающем норму потребления).

2.2. Поведенческое тестирование

Поведение оценивали в ряде тестов, отражающих три типа фенотипических характеристик (эмоциональное, социальное и когнитивное поведение).

Для фенотипирования мышей с двумя мутациями в гене *Disc1* эксперимент был разделен на три этапа с использованием разных мышей в исследуемых группах в последовательности: 1) «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «открытое поле» (ОП), тест на выработку УРПИ; 2) тест на социальную мотивацию и распознавание, тест «вынужденное плавание», тест на сенсорно-моторную фильтрацию информации (РРІ); 3) тест на закапывание шариков, «Т-образный лабиринт», латентное торможение (LI). В группах было по 7-10 мышей, при этом в ПКЛ и ОП – до 12 особей; для теста LI было взято вдвое больше мышей, чтобы при разделении на две экспериментальные группы оставалось достаточное для статистической обработки количество.

Для оценки поведения животных в эксперименте с ω -3-ПНЖК-обогащенной диетой тесты проводились в следующей последовательности: ПКЛ, ОП, «Т-образный лабиринт», тест на социальную мотивацию, «подвешивание за хвост», РРІ и тест на память страха. Дизайн этой части работы подробно описан далее.

Влияние блокатора STER на поведение гомозиготных мышей линии *Disc1-L100P* исследовалось на разных животных в тестах «открытое поле», РРІ и LI (так как в данном тесте группы делятся надвое, то мышей было взято вдвое больше). В группах (WT + физраствор; WT + препарат; L100P-hom + физраствор; L100P-hom + препарат) было по 7-10 самцов.

Угашение УРПИ у гомозигот изучалось отдельно от других экспериментов. В данном эксперименте было 6 групп по 12 животных (всего 72): самцы и самки WT, L100P-hom и Q31L-hom.

Тестирование проводили между 9:00 и 16:00 часами. Перед экспериментами мышей акклиматизировали в экспериментальной комнате в течение 30 мин. Между тестированиями каждой мыши оборудование очищалось 70% этанолом для удаления запахов. Соблюдались все условия работы с животными в соответствии с международными нормами (Council of the European Communities Directive 86/609/EES).

2.2.1. Тревожность в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ)

Эксперимент выполнен согласно протоколу (Rodgers & Cole, 1994). Мышь помещали в центр крестообразного лабиринта и оставляли на 5 минут для свободного передвижения. Регистрировали время пребывания животного в закрытых и открытых рукавах лабиринта, что отражает его тревожность, а также количество заглядываний под лабиринт, что считается проявлением исследовательской активности.

2.2.2. Двигательная активность в открытом поле (ОП)

Данный тест проводился в установке «открытое поле», сделанной из плексигласа (40 см × 40 см × 37 см). Мышь сажали в центр поля и в течение 5 минут регистрировали пройденный путь (горизонтальная активность), стойки с опорой на стенку и без (вертикальная активность), а также подсчитывали количество актов груминга и дефекаций (эмоциональный статус) (Seibenhener & Wooten, 2015). Кроме того, с использованием программного обеспечения Noldus Ethovision XT-10 сопоставляли длительность нахождения мыши в центре и на периферии ОП, что позволяет оценить тревожность.

2.2.3. Депрессивноподобное поведение в тесте вынужденного плавания

Установка для проведения данного эксперимента представляет собой прозрачный сосуд (диаметром 10 см и высотой 48 см), установленный на платформе и огороженный непрозрачными стенками, который наполняют водой (высота столба жидкости 27 см). Напротив открытой стороны устанавливается камера на уровне поверхности воды. Мышь помещали в воду и регистрировали её поведение в течение 6 минут (Yankelevitch-Yahav et al., 2015). В дальнейшем анализе учитываются только последние 4 минуты теста – оценивается относительная продолжительность замирания животного (поведенческое отчаянье). Увеличение этого времени свидетельствует о депрессивноподобном поведении.

2.2.4. Компульсивноподобное поведение в тесте на закапывание шариков

Для исследования компульсивноподобного поведения был проведен тест на закапывание шариков по протоколу (Angoa-Pérez et al., 2013). В аналогичную домашней клетку насыпали ровным слоем подстил (высотой 5 см), в котором симметрично в три ряда раскладывали стеклянные шарики (диаметром 1 см, 15 штук). Мышь оставляли в клетке, накрытой перевернутой решеткой, на 30 минут, после чего подсчитывали количество полностью закопанных шариков.

2.2.5. Социальное поведение в тесте «Социальная мотивация и распознавание»

Эксперимент был модифицирован из протокола (Kaidanovich-Beilin et al., 2011) для оборудования лаборатории (экспериментальной камеры из оргстекла (40 см × 40 см × 37 см) – «открытое поле», без перегородок). В противоположных углах одной стороны установки размещались два полых решетчатых цилиндра одинакового размера (65 × 6,5 × 10,5 см). Тестирование состояло из трех этапов (рис.4), между ними мышь возвращали в домашнюю клетку на 1-2 минуты:

1. Адаптация. Мышь помещали в экспериментальную установку на 5 минут.
2. Сессия-1. Внутри контейнера А помещали партнёра №1 (незнакомая мышь дикого типа, того же пола, возраста и веса, что и тестируемые животные), в контейнер В - нейтральный предмет без запаха и вкуса (игрушка).
3. Сессия-2. Нейтральный предмет заменяли незнакомой мышью (партнёр №2; мышь дикого типа, того же пола, возраста и веса, что и тестируемые животные). Соответственно, тестировали реакцию животного в ответ на уже знакомого партнёра №1 и нового партнёра №2.

Видеорегистрация и анализ поведения велись с использованием оборудования фирмы Noldus International Technology. В течение первой и второй сессии регистрировали продолжительность нахождения и число заходов в исследуемые зоны А и В (пространство в радиусе 12 см от углов с цилиндрами).

Данный тест даёт возможность оценить предпочтение мыши к исследованию живого объекта по сравнению с неживым (социальная мотивация), распознавание мышью уже знакомого партнёра и предпочтение к изучению незнакомого (социальное распознавание).

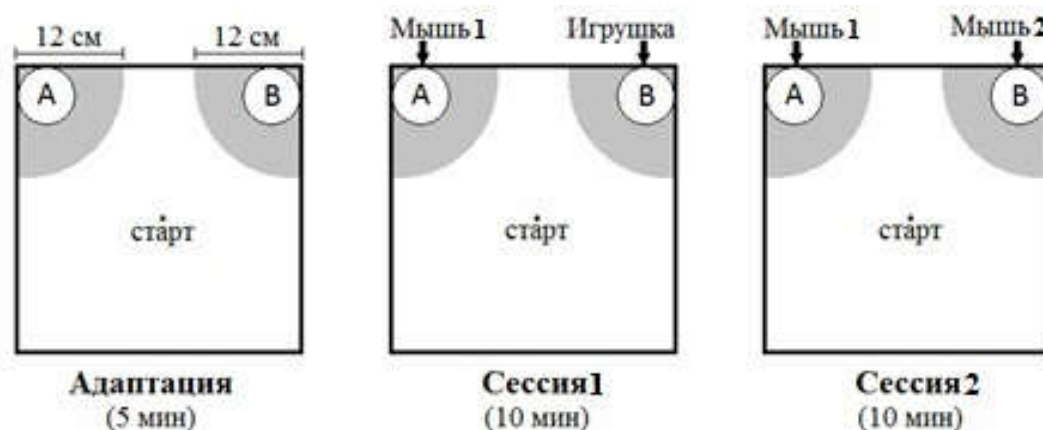


Рисунок 4. Схема теста «Социальная мотивация и распознавание»: А и В – цилиндрические контейнеры; закрашенные участки – близкое к ним пространство (сектор радиусом 12 см), нахождение мыши в котором анализировалось.

2.2.6. Кратковременная пространственная память в Т-образном лабиринте

Установка представляет собой горизонтальный лабиринт в виде буквы «Т», три одинаковой длины рукава которого огорожены стенками. Стартовый рукав А, расположенный под прямым углом к двум остальным рукавам (В и С), имеет дополнительный отсек, отделённый от лабиринта дверцей. Мышь помещали в стартовый отсек, после чего открывали дверцу, предоставляя мыши возможность исследовать лабиринт. В течение 5 минут регистрировали количество входов в каждый рукав («вход» определялся как пересечение центром тела границы области рукава) и их последовательность (например, АВССАВ и т.д.). Для дальнейшего обсчета данных эти последовательности разбиваются на триплеты (из примера выше: АВС, ВСС, ССА и САВ). Спонтанным чередованием (СЧ) считаются триплеты из трёх разных букв (т.е. последовательное посещение всех трех рукавов) – это, например, АВС или САВ, но не СВС или ВСС. Далее считается процент спонтанных чередований по формуле: $((СЧ) / (\text{количество «входов»} - 2)) * 100\%$. Данный тест позволяет определить нарушения кратковременной памяти (Powell & Miyakawa, 2006; Lipina et al., 2013).

2.2.7. Сенсорно-моторная фильтрация в тесте «престимульное торможение реакции вздрагивания» (PPI)

Данный тест проводился в звукоизолированной камере SR-LabStartle Response System согласно протоколу (Lipina et al., 2010). Использовались следующие

звуковые сигналы: престоимы мощностью 72, 78, 82, 86 дБ; стимулы, вызывающие реакцию вздрагивания (ASR), – 110 дБ; и фоновый шум – 65 дБ. Во время тестирования подавался фоновый шум на постоянной основе, а стимулы (Pulse) и престоимы (Prepulse, PP) в определенной последовательности. Схема эксперимента выглядит следующим образом: 1) 5-минутная акклиматизация на уровне фонового шума; 2) десять стимулов; 3) десять блоков, каждый из которых содержит все шесть типов сигналов (Pulse, PP72-P, PP78-P, PP82-P, PP86-P, отсутствие сигнала) в псевдослучайном порядке; 4) ещё десять стимулов. Мышь в данной установке помещалась в закрытый цилиндр с вентиляционными отверстиями, который устанавливался на чувствительную платформу. В ходе теста регистрировали амплитуду вздрагивания мыши в ответ на стимулы. В дальнейшем подсчитывался процент PPI, вызванного каждой интенсивностью престоима (т.е. четыре показателя), по формуле: $(1 - (\text{амплитуда вздрагивания в ответ на престоим}) / (\text{амплитуда вздрагивания в ответ на только стимул})) * 100\%$.

При шизофреноподобном поведении нарушается процесс сенсорно-моторной фильтрации информации, и у таких животных нормальное торможение ASR при предварительном звуковом сигнале меньшей громкости будет снижено, то есть %PPI будет ниже по сравнению с контрольными животными (Braff et al., 2001).

2.2.8. Шизофреноподобное поведение в тесте «латентное торможение памяти страха» (LI)

Данный тест проведен по протоколу (Weiner, 2003) с использованием двух установок – камеры Gemini Avoidance System (San-Diego Instruments, США) применялись для обучения, а последующее тестирование проводилось в открытом поле (40 см × 40 см × 37 см). Мышей делили на две группы: с преэкспозицией и без.

Эксперимент состоял из трех сессий:

1) Предварительная экспозиция к звуковому сигналу («преэкспозиция»; группа ПЭ) – половине экспериментальных животных предъявлялся тон (условный стимул) по 40 раз (30 секунд; 80 дБ, 3,6 кГц) с промежуточным интервалом 40 ± 30 секунд. Животные без преэкспозиции к тону (группа БПЭ) находились в экспериментальной установке 15 минут до начала следующей сессии.

2) Стадия «обучение» – мышам предъявлялся тон в течение 1 секунды, за которым сразу следовал удар электрического тока (безусловный стимул) (1 сек., 0,4

МА). Затем такая же пара тон-шок повторно подавалась два раза с 3-х минутным интервалом, после чего животные возвращались в домашнюю клетку.

3) Спустя 24 часа проводилась последняя сессия латентного торможения – «тестирование». Каждая мышь помещалась в центр ОП, располагающегося в другой комнате (смена контекста). После 3-х минутной адаптации подавался непрерывный звуковой сигнал, аналогичный применённому (80 дБ, 3,6 кГц), в течение 5 минут. Затем, мышь оставалась в установке дополнительно на 2 минуты. В течение общих 10 минут тестирования регистрировали реакцию замиранья.

Латентное торможение состоит в сопоставлении более ранней памяти о том, что тон был нейтрален (у группы БПЭ), и более новой памяти о том, что тон уже связан с шоком.

При шизофрении нарушается способность организма научиться игнорировать нерелевантные стимулы, что и отражает «латентное торможение». Исследователи выделяют две формы нарушений LI – дефицит и устойчивую форму LI (Weiner, 2003), которые ассоциированы, соответственно, с позитивной и негативной симптоматикой шизофрении. В норме мыши группы с ПЭ замирают меньше БПЭ.

При позитивной симптоматике характерна быстрая «переключаемость» фокуса внимания, поэтому моделирующие такое состояние мыши из группы ПЭ после подачи обусловленного тона вместе с безусловленным стимулом (шок), быстрее забывают о том, что тон первоначально был нейтрален (то есть, что его можно игнорировать), и поэтому «переключаются» на более позднюю ассоциацию с шоком, в результате чего мыши обеих групп меньше отличаются по замиранью. Для больных с негативной симптоматикой, напротив, характерна устойчивость в «переключаемости» от памяти прошлого к настоящему. Соответственно, мыши, моделирующие такой вариант психопатологии, склонны игнорировать новую связь тона с шоком, что приводит к ещё более выраженным различиям между группами, и мыши с ПЭ замирают существенно меньше чем мыши БПЭ. Таким образом, можно определить, какую симптоматику проявляют животные выбранной модели.

2.2.9. Долговременная память в тесте на выработку условной реакции пассивного избегания (УРПИ, память страха) и её угашение

Данные тесты проведены в экспериментальных установках Gemini Avoidance System по протоколу (Дубровина и др., 2017). В первый день мышь помещали в

ярко освещенный отсек камеры Gemini Avoidance System (San-Diego Instruments, США), имеющий проход в соседний, тёмный, отсек, и предоставляли свободно исследовать установку в течение 180 секунд, после чего возвращали в домашнюю клетку. Вследствие своего ночного образа жизни и исследовательской активности мыши стремятся попасть в темный отсек. Во второй день теста процедура повторялась, но после того, как мышь перешла в темный отсек, автоматическая дверца закрывается, и мышь в течение 2 с получала болевое электрокожное раздражение током (0,5 мА для экспериментов с гетерозиготами; 0,75 мА для гомозигот, как было показано в литературе (Дубровина и др., 2017)). Через 10-20 с после обучения животное переносили в домашнюю клетку. В третий день мышь повторно сажали в светлую камеру, но мыши уже требовалось больше времени для перехода, либо животное вообще не пыталось уйти из светлой камеры (пассивное избегание). После перехода (на это мыши дается 180 секунд) дверца закрывалась и мышь возвращали в домашнюю клетку. В этот день регистрировали латентное время перехода мыши в темный отсек, на основании чего в дальнейшем делали вывод об успешности формирования условной реакции пассивного избегания.

Угашение УРПИ представляло процедуру ежедневного тестирования воспроизведения следа памяти в течение 24 дней после выработки рефлекса. Началом угашения памяти страха считался день, когда значения латентного периода перехода при тестировании начинали достоверно отличаться от показателей в день после шока, а временем достижения полного угашения – день, когда они не отличались от показателей в день выработки рефлекса.

2.2.10. Вероятностное обучение при 80%-ном вознаграждении

Экспериментальная установка (рис. 5). Обучение и тестирование на вероятностное обучение и память проводили в белом акриловом прямоугольном лабиринте (76 см в длину × 50 см в ширину × 30 см в высоту). Лабиринт был разделен пластиковой перегородкой (ширина 50 см × высота 49 см) на «отсек выбора» и «отсек ожидания». В начале каждого испытания мышь помещали в «отсек ожидания», где в нижней части центра перегородки располагалась небольшая пластиковая дверь (ширина 10 см × высота 5 см). Данная дверь фиксировалась с помощью липкой ленты, расположенной на стороне зоны ожидания, что позволяло легко открыть и закрыть стартовую дверь. В «отсеке

выбора» акриловая перегородка (высота 30 см × ширина 16 см) начинавшаяся от задней стенки, разделяла область выбора на 2 одинаковые части. Каждая часть «отсека выбора» имела четкие визуальные сигналы на задней и боковых стенках. На боковых стенках использовали двумерные черно-белые фигуры размером 8×12 см. Различные трехмерные объекты (игрушечный мячик (диаметр – 6 см) и картонная коробка (стороны – по 7,5 см)) фиксировали на задней стенке каждого пространственного положения примерно в 15 см над полом. В каждом месте выбора кормушка (диаметр = 2 см, глубина ≈ 1,25 см) была размещена на расстоянии 3 см от задней стенки. Каждая часть отсека выбора снабжена кормушкой с приманкой или без нее, с пространственными ориентирами на боковых и задней стенках отсека.

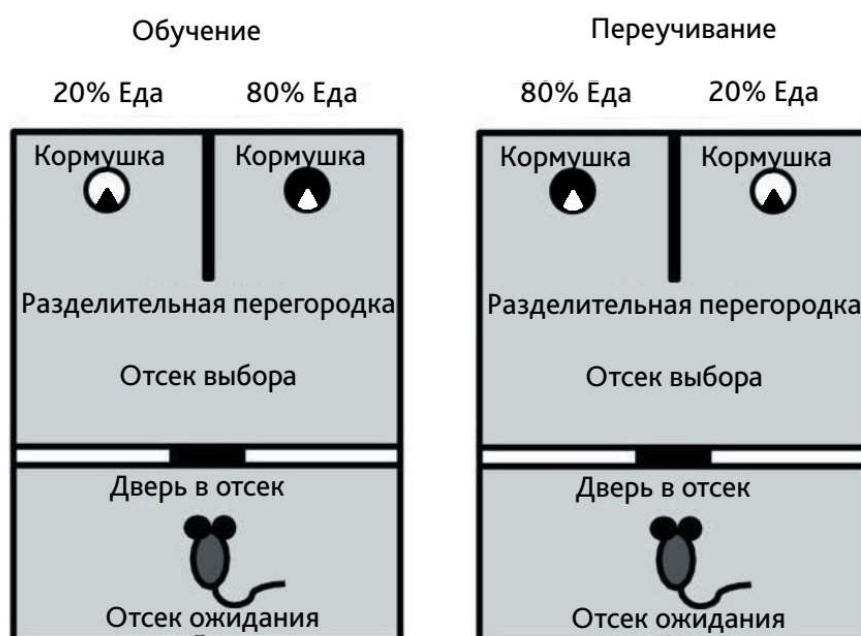


Рисунок 5. Схематическое изображение экспериментальной установки для оценки пространственного обучения, памяти и переучивания при пищевом подкреплении в случайном порядке при 80% случаев (взято из статьи Ткаченко и др., 2018).

Данный тест проводился на самцах мышей с мутацией L100P (гомо- и гетерозигот) и WT. В группах было по 7-11 особей.

Экспериментальные процедуры:

Депривация пищи. За неделю до начала эксперимента животных ежедневно лишали доступа к корму с 17:00 до 9:00. За это время вес мышей должен уменьшится до 85% от первоначального.

Приучение к экспериментальной установке и приманке. В течение 2-4 дней мышей приучали к потреблению приманки (2-3 зерна воздушной пшеницы с запахом карамели, компания «На здоровье») в левой и правой части «отсека выбора». Мышь помещали в стартовый отсек и открывали дверцу, предоставляя животному свободный выбор направления (мышь может пробыть в первом отсеке около минуты, после чего экспериментатор аккуратно направляет её через открытые ворота). Дверца закрывается и засекается 15 минут. После того, как мышь погрызёт приманку (не съест целиком) в обоих отсеках, дверцу поднимают – если мышь не возвращается в стартовый отсек в течение 5 секунд, то экспериментатор аккуратно направляет её туда. После этого дверцу закрывают, а приманку в отсеках меняют (для стимуляции животного). Затем дверцу снова поднимают, а после захода животного в отсек выбора, опять опускают. К последнему сеансу обучения все мыши возвращались в стартовую зону в течение 3-5 секунд после завершения испытания без необходимости вмешательства экспериментатора. Критерием готовности мыши является выполнение такого возвращения 4-6 раз в течение 15 минут.

Приобретение навыка, обучение (1 день). На данном этапе мышь обучали находить корм в одном, «правильном», отсеке установки с определенными пространственными ориентирами. В 80% испытаний приманка находилась в «правильном», в то время как в 20% испытаний она была в «неправильном» отсеке – случайным образом, но первые два испытания каждой фазы теста всегда содержали подкрепление в «правильном» отсеке. После того как мышь выбирала отсек, её сразу же возвращали в стартовый отсек: если мышь выбирала отсек с пищей, то она могла её погрызть (награда); если был выбран неправильный отсек, то мыши обязательно давали исследовать пустую кормушку, но не давали возможность обследовать другой отсек и получить вознаграждение. Критерий успешного обучения считался достигнутым, если мышь правильно выбирала отсек с едой в течение 6 последовательных попыток (верным считался выбор «правильного» отсека независимо от настоящего расположения приманки при каждой попытке).

Проверка и переучивание (1 день). Спустя 24 ч мышь тестировали (аналогичное расположение приманки) на запоминание приобретенного навыка

нахождения отсека с кормом. В случае успешного обучения мышь выбирала отсек с кормом в 5 попытках из 6 в течение 1 дня. Сразу же после этого (для каждой мыши, после достижения критерия обучения) начиналось «переучивание», когда корм предлагался в противоположном отсеке, который и становился «правильным» для теста в этот день. Соблюдались все вышеописанные условия и аналогичный критерий успешного переобучения (6 последовательных правильных выборов). Регистрировали количество ошибок, сделанных при тестировании на сохранение приобретенного пространственного распознавания местоположения приманки.

Анализ ошибок при переучивании:

- *Персеверативные ошибки* показывают, насколько животное научилось игнорировать ранее выбранный шаблон. Подсчитывались, когда мышь продолжала выбирать ранее правильное пространственное местоположение в процессе переучивания (до первого верного выбора). На первом испытании переучивания не учитывалось.
- *Регрессивные ошибки* показывают насколько животное способно поддерживать новый шаблон после первоначального выбора. Подсчитывались, когда мышь уже после верного выбора снова выбирала «неправильный» отсек (то есть ранее «верный»).

2.3. Применение диеты, обогащенной ω -3 полиненасыщенными жирными кислотами

Приготовление корма осуществлялось следующим образом: комбикорм ("ПроКорм" для лабораторных крыс и мышей (Арт. С-19)), содержащий 6% сырого жира, в размолотом виде механически смешивали с маслом, из расчета 1,74 мл масла на 100 г корма. Для приготовления экспериментальной диеты, обогащенной ω -3-ПНЖК (соотношение ω -3/ ω -6 составляет приблизительно 4:1, аналогично показанному соотношению (Islam et al., 2017)), использовалось льняное масло (56,1% ω -3 и 15,6% ω -6 ЖК), а для контрольной – рыжиковое масло (~35% ω -3 и ~18% ω -6 ЖК). После формирования гнёзд (см. рис. 1), родительским особям ежедневно предлагали обогащенный ω -3 и контрольный корм, таким образом, участвующие в эксперименте мыши получали необходимую диету на протяжении всей жизни. Отсадка помёта производилась в возрасте ~1 месяц в аналогичные

клетки по 2-7 особей, разделённых по полу. Численность получившихся экспериментальных групп представлена в Таблице 1.

Таблица 1

Количество (n) экспериментальных мышей по группам

Диета	Пол	Генотип			
		WT	Q31L-het	L100P-het	L100P/Q31L
Контроль	Самцы	10	11	12	9
	Самки	7	13	8	8
Омега	Самцы	12	8	13	11
	Самки	10	6	15	5

2.4. Применение блокатора стриатумспецифичной протеин тирозинфосфатазы (STEP)

Препарат ТС-2051, синтезированный в НИОХ СО РАН, однократно вводили мышам внутривентриально в дозе 10 мг/кг (ранее показавшей более выраженный эффект для соединения ТС-2053) за 30 минут до начала тестирования. Данное соединение получено среди ряда других бензопентатиепинов (химических аналогов), способных ингибировать активность STEP (Kulikov et al., 2012, Baguley et al., 2015, Xu et al., 2016, Rudraraju & Zhang, 2018, Kulikova et al., 2018).

2.5. Статистическая обработка данных

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistical10 для Windows 8. Для определения нормальности распределения данных использовали критерий Шапиро-Уилка. При нормальном распределении ($p > 0,05$) сравнивали средние значения с помощью двух- и трехфакторного анализа переменных (MANOVA) (с повторными измерениями для тестов на социальную мотивацию и PPI) и последующим post-hoc анализом с применением LSD критерия Фишера (для теста «вероятностное обучение» применяли t-критерий Стьюдена). В случае отсутствия нормального распределения ($p < 0,05$) применяли непараметрический ранговый анализ Краскела-Уоллиса в тесте на память

страха, а в эксперименте с угашением УРПИ использовали T-критерий Вилкосона и критерий Фридмана для связанных выборок для анализа латентного периода перехода в программе STATISTICA 10, после чего проводили попарные сравнения этого времени между тестированиями при помощи критерия Дарбина-Коновера в программе Jmovi (версия 2.2.5).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Влияние мутаций *Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L* в гомозиготном состоянии на выработку УРПИ и её угашение

Обучение условной реакции пассивного избегания проявлялось в увеличении латентного периода перехода в темную камеру при тестировании через 24 часа по сравнению с днем выработки рефлекса (рис. 6). Анализ данного показателя за эти два дня при помощи критерия Т-критерия Вилкосона выявил эффект повторных измерений для самцов и самок линии C57BL/6 и мышей, гомозиготных по *Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L* ($p < 0,001$). Таким образом, мыши всех трех линий хорошо обучились пассивному избеганию при использовании силы тока 0,75 мА.

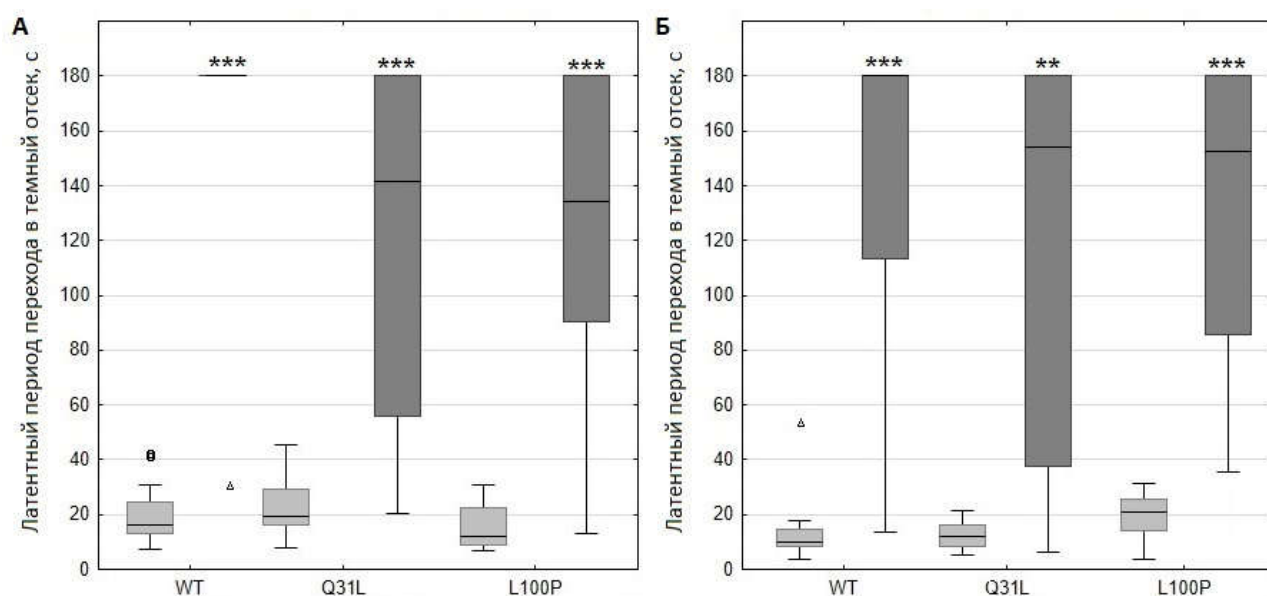


Рисунок 6. Выработка условной реакции пассивного избегания у самцов (А) и самок (Б) мышей, гомозиготных по *Disc1-L100P* и *Disc1-Q31L* в сравнении с WT. Светлые прямоугольники – день обучения, темные – тестирование через 24 часа после обучения. Показаны медиана, межквартильный размах (прямоугольники) – от первого до третьего квартиля, максимальное и минимальное значение данных в пределах $1,5 \times IQR$ (усы); точки данных за пределами прямоугольников – выбросы (○) и экстремумы (Δ). *** - $p < 0,001$, ** - $p < 0,01$ по сравнению с днем обучения (определено критерием Дарбина-Коновера).

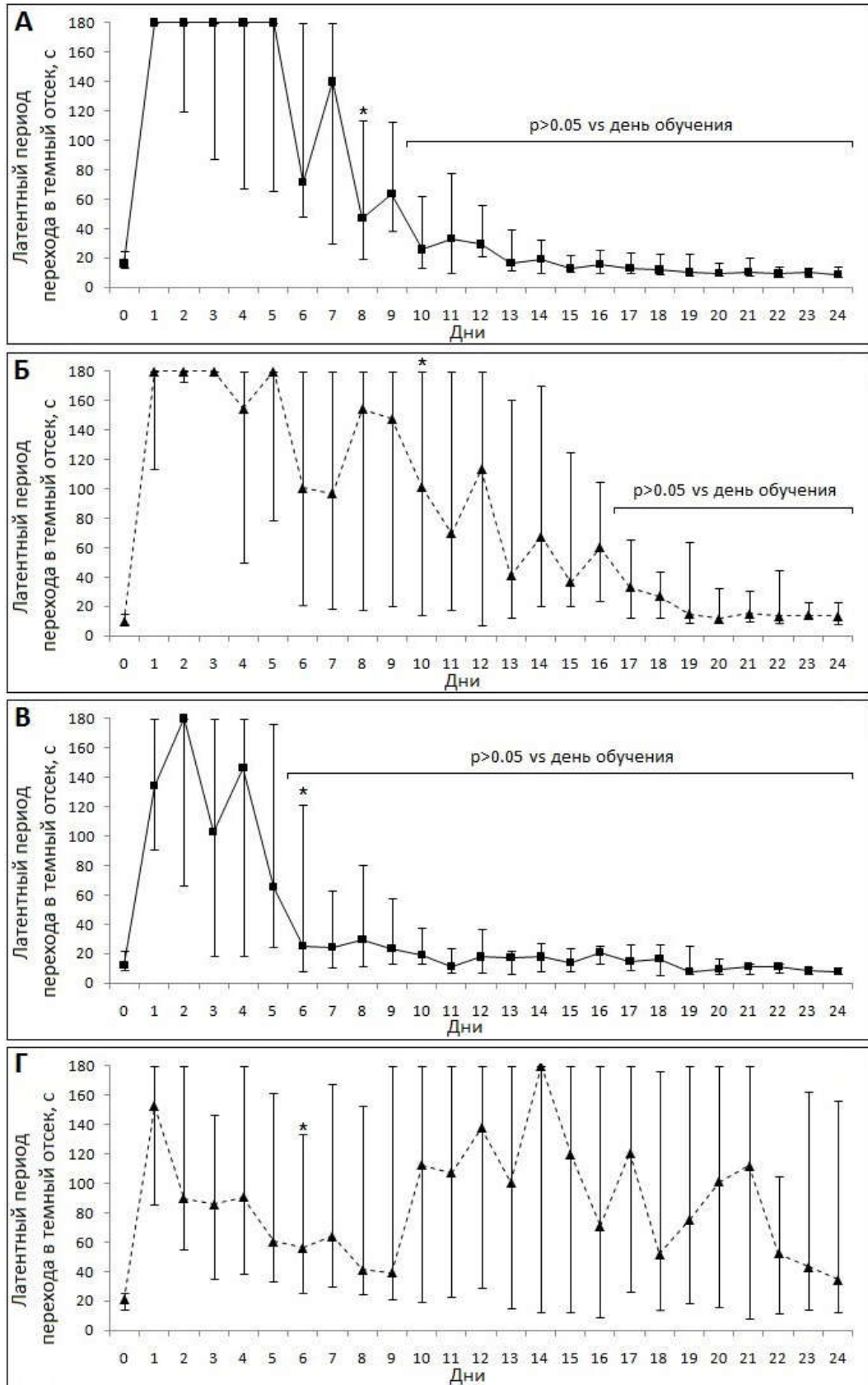
При анализе латентного периода перехода в течение 24 дней после обучения критерием Фридмана было показано влияние повторных измерений для самцов и самок C57BL/6 ($\chi^2=172,50$; $df=23$; $p<0,001$ и $\chi^2=101,57$; $df=23$; $p<0,001$, соответственно), а также для самцов L100P-hom ($\chi^2=117,01$; $df=23$; $p<0,001$) и Q31L-hom ($\chi^2=75,9$; $df=23$; $p<0,001$), но не для самок этих линий ($\chi^2=32,34$; $df=23$; $p=0,09$ и $\chi^2=22,6$; $df=23$; $p=0,482$, соответственно).

Последующие попарные сравнения при помощи критерия Дарбина-Коновера позволили детальнее оценить зависимость половых различий в угашении УРПИ от генотипа мышей. Было показано, что у самок C57BL/6 снижение значений латентного периода перехода относительно уровня обучения (1-й тест после обучения) происходило при 10-м тестировании ($p<0.001$), а у самцов начиналось с 8-го теста ($p<0.001$). У самцов L100P-hom угашение начиналось с 6-го теста ($p<0.01$), а у самцов Q31L-hom – с 18-го теста ($p<0.01$). Обращает на себя внимание нестабильность процесса угашения у самок L100P-hom – в периоды 6-11, 13, 15, 16, 18, 20-24 дни их латентный период перехода в темный отсек статистически значимо отличался от значения в первый день тестирования. При этом у самок Q31L-hom не обнаружено начала процесса угашения.

Оценка времени достижения полного угашения, когда значения латентного периода перехода при тестировании не отличались от показателей в день выработки рефлекса ($p>0.05$), также является показателем межлинейных различий процесса угашения. Показано, что у самцов C57BL/6 полное угашение наступило при 10-м тестировании, а у самцов L100P-hom – при 6-м, то есть у последних наблюдается ускоренное угашение. Однако, у самцов Q31L-hom оно произошло при 19-м тесте, что отражает задержку угашения. У самок C57BL/6 полное угашение произошло при 17-м тесте ($p>0.05$), но у самок мутантных линий даже после 24 «напоминаний» контекста экспериментальной установки значения латентного периода перехода достоверно отличались от данных в день выработки рефлекса ($p<0.05$), то есть полного угашения УРПИ не произошло.

Таким образом, мутация *Disc1*-L100P в гомозиготном состоянии приводила к ускоренному угашению условной реакции пассивного избегания у самцов, тогда как у самок она вызывала нарушение динамики процесса угашения, а мутация

Disc1-Q31L в гомозиготном состоянии приводила к задержке угашения у самцов и полному его отсутствию за период тестирования у самок (рис. 7).



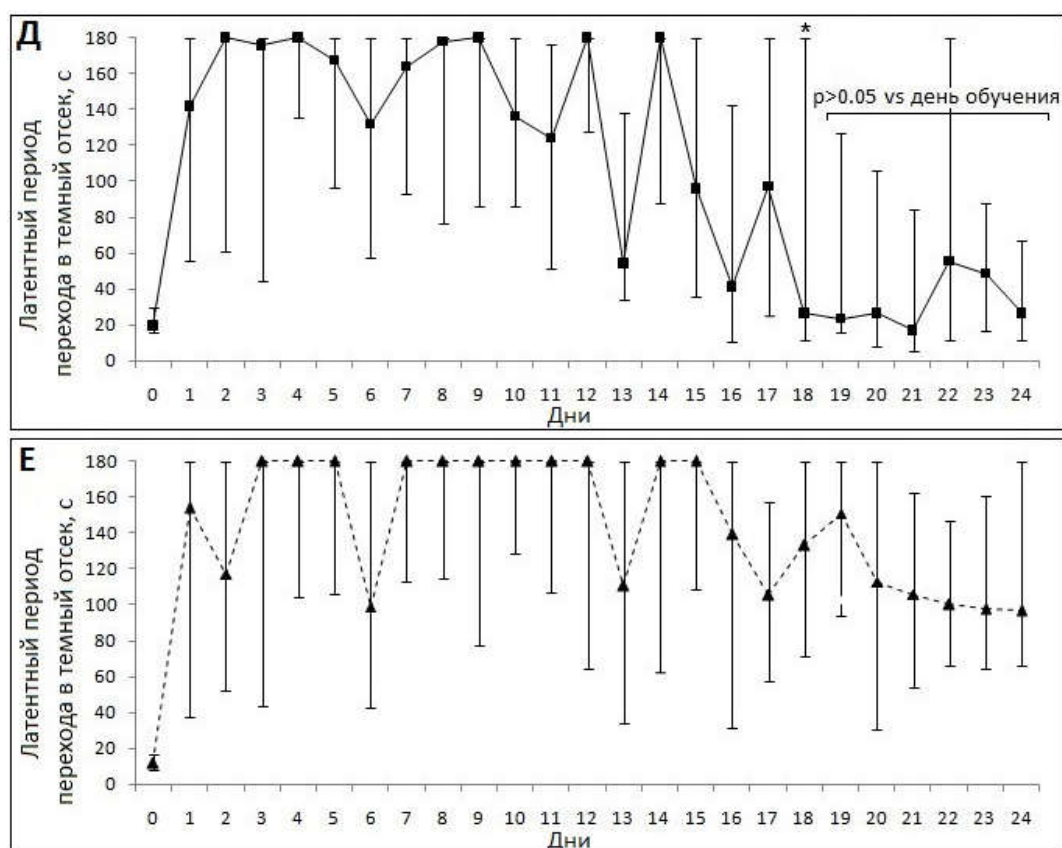


Рисунок 7. Половые и межлинейные различия угашения условной реакции пассивного избегания у мышей линий *Disc1-L100P*, *Disc1-Q31L* и *C57BL/6*: А – самцы *C57BL/6*; Б – самки *C57BL/6*; В – самцы *L100P-hom*; Г – самки *L100P-hom*; Д – самцы *Q31L-hom*; Е – самки *Q31L-hom*. Показаны медиана и межквартильный размах (усы). * – $p < 0.05$ по сравнению с первым днем тестирования (показано только начало угашения – то есть первый такой день); также показаны дни полного угашения условной реакции пассивного избегания ($p > 0.05$ по сравнению с днем обучения).

У всех исследованных нами линий мышей наблюдался дефицит угашения пассивного избегания у самок по сравнению с самцами. Согласно литературным данным у самок грызунов скорость формирования нового следа памяти о безопасности условного стимула (контекст, звук, свет), ранее сочетавшегося с болевым наказанием, замедлена относительно самцов (Ribeiro et al., 2010; Clark et al., 2019; Velasco et al., 2019). Это соответствует полученным нами результатам.

Существует несколько гипотез о причинах половых различий в процессах угашения УРПИ у грызунов. Так, самым очевидным является предположение о том, что самки более чувствительны к болевому раздражению. Однако в

немногочисленных специальных экспериментах по анализу болевой чувствительности к электрическому току на самцах и самках мышей и крыс не выявлено существенных половых различий (Greiner et al., 2019; Kelley et al., 2009). Другая гипотеза основывается на предположении эволюционно закрепленных различиях в поведении самок и самцов. Согласно ей, дефицит УРПИ у самок мышей связан с предрасположенностью к сохранению реакции страха при многократном предъявлении ставшего безопасным контекста установки, что находит экспериментальное подтверждение (Keiser et al., 2017). Показано также, что у самок существенно снижена способность дифференцировать сигналы, свидетельствующие об опасности или безопасности контекста (Greiner et al., 2019), хотя есть и другие данные (Clark et al., 2019). Нельзя исключить и вклад разной стратегии поведения грызунов при встрече с потенциальной угрозой – активной у самок и пассивной у самцов, как было показано в разных поведенческих и когнитивных тестах (Colom-Lapetina et al., 2019; Greiner et al., 2019; Gruene et al., 2015). Есть и физиологические обоснования данных различий. Так известно, что в экспрессию условнорефлекторного страха вовлечены разные мозговые структуры – у самок преимущественно базолатеральная миндалина, у самцов гиппокамп, а в его торможение – медиальная префронтальная кора, функционирование которой имеет половые различия, приводящие к более слабому подавлению реакции страха у самок (Marek et al., 2018; Park & Chung, 2019; Day et al., 2020; Day & Stevenson, 2020). Стоит отметить, что некоторые линии грызунов таких различий не показывают.

Интересным представляется выявленное у самцов *Disc1-L100P* более быстрое достижение полного угашения по сравнению с контрольными самцами, что оказалось неожиданным, поскольку у самцов грызунов в других моделях шизофрении исследователи регистрировали задержку угашения аверсивных условных реакций (Brown et al., 2015; Clifton et al., 2018; Uliana et al., 2018). Поскольку самцы *Disc1-L100P* отличаются от контроля повышенной двигательной активностью и сниженной амплитудой акустической реакции вздрагивания (startle), что может свидетельствовать о менее выраженном проявлении страха (Clapcote et al., 2007; Walsh et al., 2012), то можно предположить, что различия в угашении у самцов *Disc1-L100P* и C57BL/6 отражает их различия и в поведенческих реакциях.

Относительно межлинейных различий в угашении памяти о страхе у самок мышей C57BL/6 и *Disc1-L100P* необходимо отметить неравнозначность времени сохранения условной реакции пассивного избегания. У самок дикого типа после 10-го тестирования след памяти о наказании в «опасном» при обучении отсеке установки не воспроизводился в результате формирования нового следа памяти о безопасности темного отсека. У самок *Disc1-L100P* экспрессия памяти о страхе продолжалась до 24-го тестирования. Так как угашение развивается параллельно с процессом привыкания, то не исключено, что более сильный дефект угашения у самок *Disc1-L100P* по сравнению с C57BL/6 обусловлен генетически детерминированными различиями в привыкании к окружающей обстановке. Известно, что у мышей *Disc1-L100P*, независимо от пола, отмечался дефицит престаимульного торможения акустической реакции вздрагивания и латентного торможения, свидетельствующий о нарушении переключения внимания и, как следствие, снижении способности формировать новую ассоциацию (Clarcote et al., 2007; Walsh et al., 2012). Возможной причиной разной длительности процесса угашения у самок *Disc1-L100P* и C57BL/6 мышей может быть и их различная тревожность. Косвенным подтверждением этому служат данные о повышенной тревожности у самок мышей *Disc1D453G*, сходных по поведенческим реакциям с *Disc1-L100P*, относительно контрольных (Dachtler et al., 2016).

Показанная мышами с мутацией *Disc1-Q31L* задержка угашения УРПИ, независимо от пола, позволяет рассматривать данную линию как потенциальную модель посттравматического стрессового расстройства (Торопова и др., 2021).

3.2. Вероятностное обучение при 80% вознаграждении у гомо- и гетерозиготных по *Disc1-L100P* самцов мышей

Показано, что гомозиготные мыши линии *Disc1-L100P* по сравнению с мышами дикого типа совершают больше попыток для достижения критериев обучения и переучивания, а также больше регрессивных ошибок ($p < 0.05$; рис. 8). Данные результаты свидетельствуют о нарушении обучения у мышей с мутацией *Disc1-L100P*, более выраженном у гомозигот. Интересный результат показали гетерозиготные мыши – статистически значимо не отличаясь ни от WT, ни от гомозигот, они проявляли промежуточный фенотип. При этом только мышам WT требовалось больше попыток для достижения критериев переучивания в сравнении

с попытками для обучения ($p < 0.05$), тогда как у гомо- и гетерозиготных мышей эти показатели не отличались. Эти данные свидетельствуют о более низкой оценке вероятности событий мышами с мутацией *Disc1*-L100P.

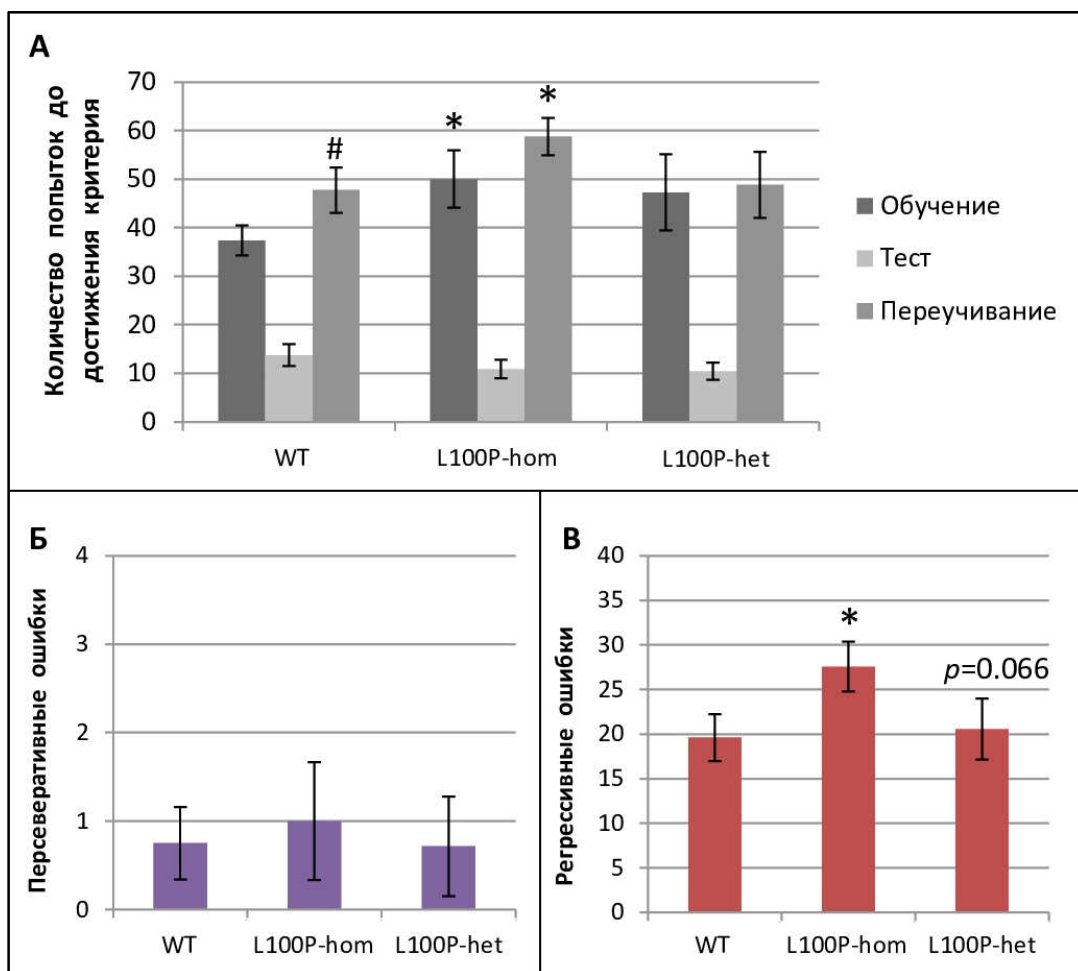


Рисунок 8. Межлинейные различия в показателях вероятностного обучения при 80% вознаграждении у самцов L100P-hom, *Disc1*-L100P-het и C57BL/6 (WT): А – подсчет количества попыток, которое совершали животные при обучении, тестировании его на следующий день и переучивании до достижения описанных ранее критериев; Б и В – подсчет количества персеверативных ошибок, совершенных животными. * – $p < 0.05$ по сравнению с WT, # – $p < 0.05$ по сравнению с обучением. Показана тенденция ($p = 0.066$) гетерозиготных мышей к совершению меньшего количества регрессионных ошибок по сравнению с гомозиготными.

3.3. Влияние двух мутаций в гене *Disc1* на поведение мышей

Была проведена оценка фаз эстрального цикла у самок всех групп и не найдено их синхронизации в пределах одной клетки, то есть влияние этого фактора можно исключить из обсуждения особенностей поведения самок в данной работе.

3.3.1. Шизофреноподобное поведение мышей с двумя мутациями в гене *Disc1* в зависимости от влияния матери

При оценке сенсорно-моторной фильтрации информации в тесте PPI с помощью повторных измерений ANOVA был показан эффект пола ($F(1,69)=7,33$; $p<0.01$) и его взаимодействия с генотипом ($F(4,69)=5,67$; $p<0.001$), а также повторов ($F(2,138)=39,61$; $p<0.001$) на реакцию вздрагивания. С помощью post-hoc анализа было показано, что самцы Q31L-het, а также самцы и самки с обеими мутациями вздрагивают сильнее, чем мыши дикого типа того же пола (рис. 9); самки WT вздрагивали больше, а Q31L(f)/L100P(m), напротив, меньше, чем самцы этого же генотипа; также эти самки вздрагивали не так сильно, как Q31L-het ($p<0.05$).

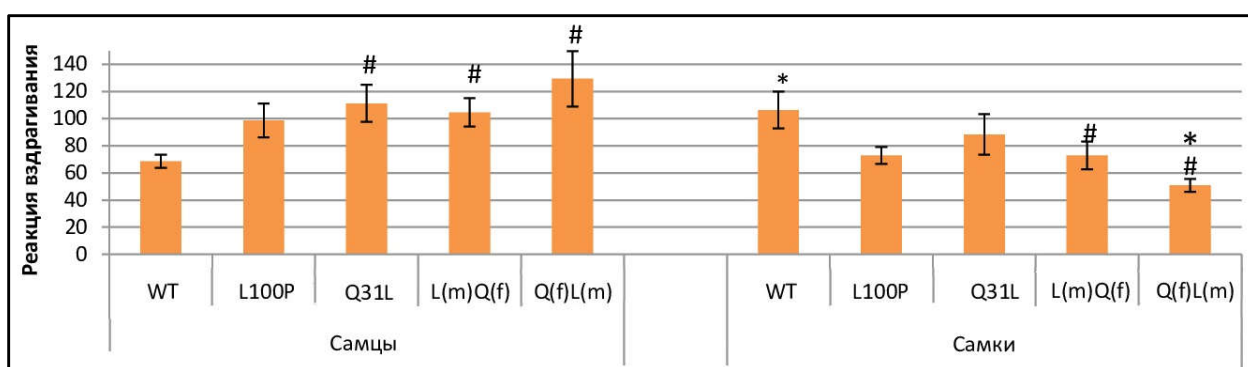


Рисунок 9. Реакция вздрагивания у мутантных по *Disc1* мышей в сравнении с WT. # – $p<0.05$, по сравнению с WT; * – $p<0.05$, по сравнению с самцами.

RMANOVA выявил эффекты генотипа ($F(4,74)=7,6452$; $p<0.0001$) и престимулов ($F(3,222)=97,6135$; $p<0.0001$) на PPI. Анализом post-hoc были обнаружены снижение PPI у самцов и самок генотипа Q31L(f)/L100P(m) относительно дикого типа (при всех престимулах; $p<0.05$; рис. 10).

Отсутствие различий между PPI гетерозигот и WT свидетельствует о том, что наличия одной мутации недостаточно для изменения этого показателя при выбранной громкости престимулов. Однако мыши, несущие мутации Q31L и L100P, оказывались предрасположенными к нарушению процессов фильтрации информации, что реализовывалось в зависимости от материнского окружения и независимо от пола. Результаты данного теста подтверждают ранние работы по изучению исследуемых нами мутаций (Clarcode et al., 2007), в которых было показано влияние на PPI у гомозиготных мышей с мутацией L100P, а также у мышей с сочетанием мутаций Q31L и L100P. Тем не менее, необходимо отметить,

что в работе 2007 года гетерозиготные по L100P мыши также проявляли дефицит PPI, хоть и менее выраженный.

Примечательно, что показатель ASR, несмотря на разброс по группам, не оказывал действия на PPI, то есть сенсорно-моторная фильтрация была изменена независимо от того, насколько сильно мыши вздрагивали в ответ на стимул.

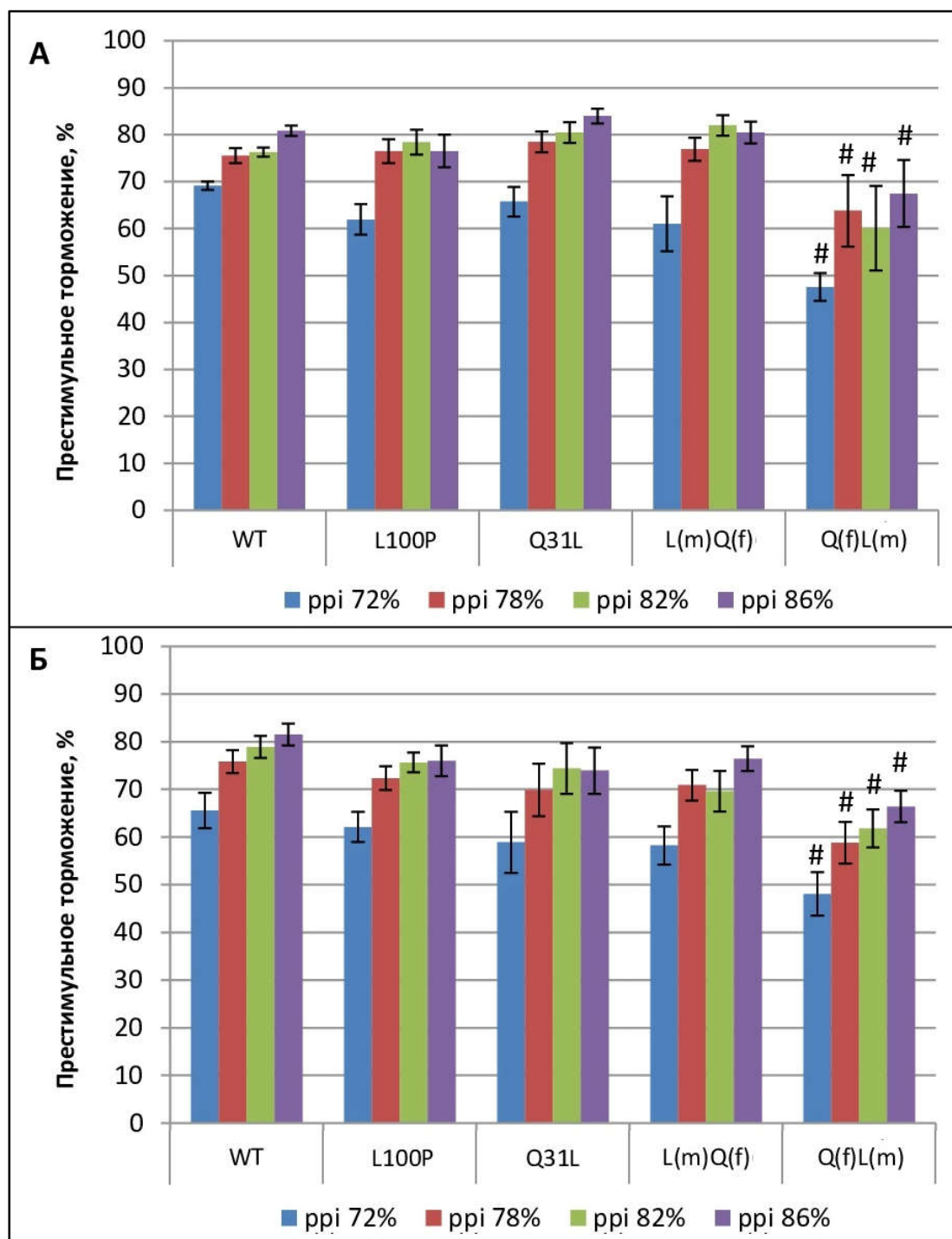


Рисунок 10. Престимульное торможение реакции вздрагивания у мутантных по *Disc1* мышей (А – самцы, Б – самки) в сравнении с диким типом. # – $p < 0.05$, по сравнению с WT.

В более специфичном на шизофреноподобное поведение тесте LI трехфакторным ANOVA были выявлены эффекты генотипа ($F(6,217)=4,301$; $p<0.001$), пола ($F(1,217)=7,421$; $p<0.01$) и условий ($F(1,217)=26,7347$; $p<0.0001$). Дальнейший post-hoc анализ показал следующие различия (рис. 11): самки L100P-het из группы с преэкспозицией замирали меньше дикого типа, а самцы Q31L-het – больше; самки L100P-het без преэкспозиции и WT с преэкспозицией замирали больше самцов; разница между группами с ПЭ и БПЭ были найдены у гетерозиготных самок L100P и компаунд-гетерозигот Q31L(f)/L100P(m) ($p<0.05$).

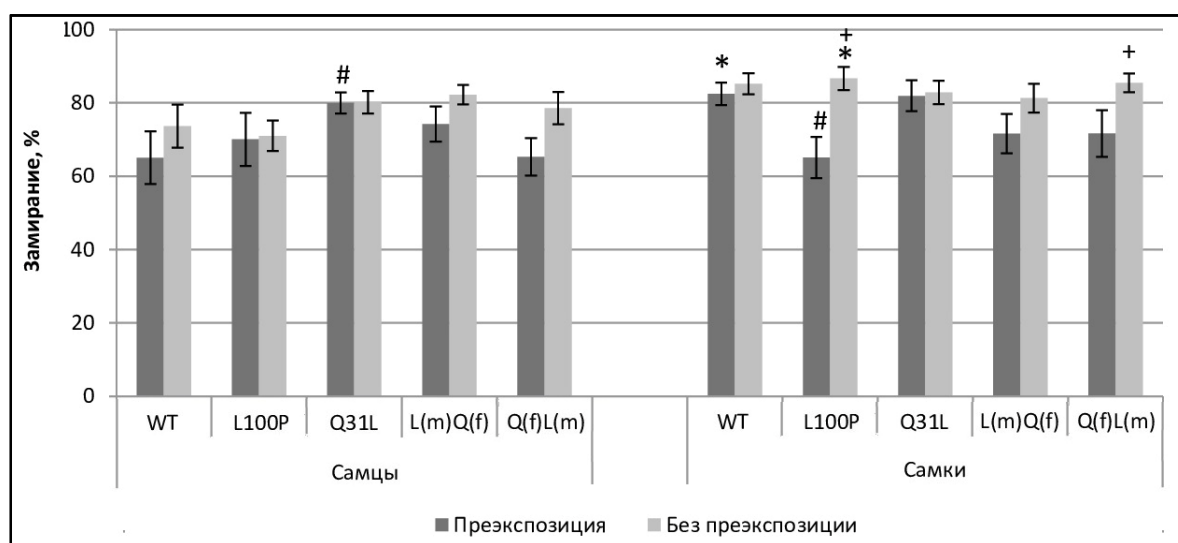


Рисунок 11. Латентное торможение у мутантных по *Disc1* мышей в сравнении с диким типом. # – $p<0.05$, по сравнению с WT; * – $p<0.05$, по сравнению с самцами; + – $p<0.05$, по сравнению с группой с преэкспозицией.

Результаты данного теста в целом подтверждают ранние работы по изучению исследуемых нами мутаций (Clapcote et al., 2007), в которых было показано влияние на латентное торможение только у гомозиготных мышей. Стоит, однако, отметить большую длительность замирания у дикого типа (при сравнении с литературными данными), из-за которой мог быть осложнен статистический анализ результатов. Можно предположить, что в используемой когорте тестов у, по крайней мере, мышей WT была повышена тревожность вследствие каких-то отличающихся условий (например, сезона), но также это может быть особенностью их поведения только во время периода проведения данного теста. Как будет показано далее, в тесте ПКЛ мыши из другой когорты не показали повышенной тревожности, поэтому нельзя считать это проявлением влияния данных генотипов.

Ещё одним часто наблюдаемым в моделях шизофрении нарушением поведения является дефицит рабочей памяти, однако мыши в данном исследовании не показали статистически значимых различий в спонтанном чередовании рукавов в Т-образном лабиринте ($p > 0.05$). Также и в тесте на выработку УРПИ (память страха) не обнаружено статистически значимых различий в латентном времени перехода в темный отсек ($p > 0.05$). Мыши, гетерозиготные по мутациям *Disc1*-Q31L и *Disc1*-L100P, хорошо обучились пассивному избеганию при силе тока 0,5 мА, в отличие от описанных ранее в разделе 3.1. и литературе гомозиготных мышей линий *Disc1*-Q31L и *Disc1*-L100P, для обучения которых потребовалось увеличение силы тока до 0,75 мА (Дубровина и др., 2017).

В нашей работе в отношении когнитивной сферы поведения была показана только предрасположенность мышей, несущих мутации Q31L и L100P, к дефициту РРІ, что согласуется с представлениями о многофакторном происхождении шизофрении у людей. Так, биопсихосоциальная концепция шизофрении предполагает наличие у человека уязвимости к определенным стрессорам, при достижении определенной интенсивности которых преодолевается «порог уязвимости» и скрытые нарушения функционирования нервной системы становятся клинически определяемыми («психический диатез»), а при дальнейшем усилении стрессового воздействия – переходят в психическое расстройство (Коцюбинский и др., 2016). Поскольку нарушения РРІ могут наблюдаться не только у больных шизофренией, но и у их здоровых родственников, а также в продромальном периоде заболевания, то такая особенность может считаться одним из клинических проявлений этого «диатеза». Таким образом, модель, показывающая лишь частичный эндофенотип шизофрении (дефицит РРІ, но не LI или рабочей памяти) в зависимости от факторов в период раннего развития, может быть полезной при исследовании превентивных подходов к предупреждению данного расстройства и лечению на раннем этапе его течения.

3.3.2. Эмоциональное поведение мышей с двумя мутациями в гене *Disc1* в зависимости от влияния матери

Для выявления депрессивноподобного поведения была проанализирована продолжительность замирания мышей в тесте «вынужденное плавание», для которой ANOVA показал влияние генотипа ($F(4,65)=6,7699$; $p < 0.001$). Post-hoc

анализ обнаружил меньшее время замирания у самцов Q31L-het по сравнению с самцами дикого типа ($p < 0.05$; рис. 12). Самки Q31L-het ($p < 0.05$), Q31L(f)/L100P(m) и L100P(f)/Q31L(m) также замирали меньше, чем самки WT ($p < 0.01$).

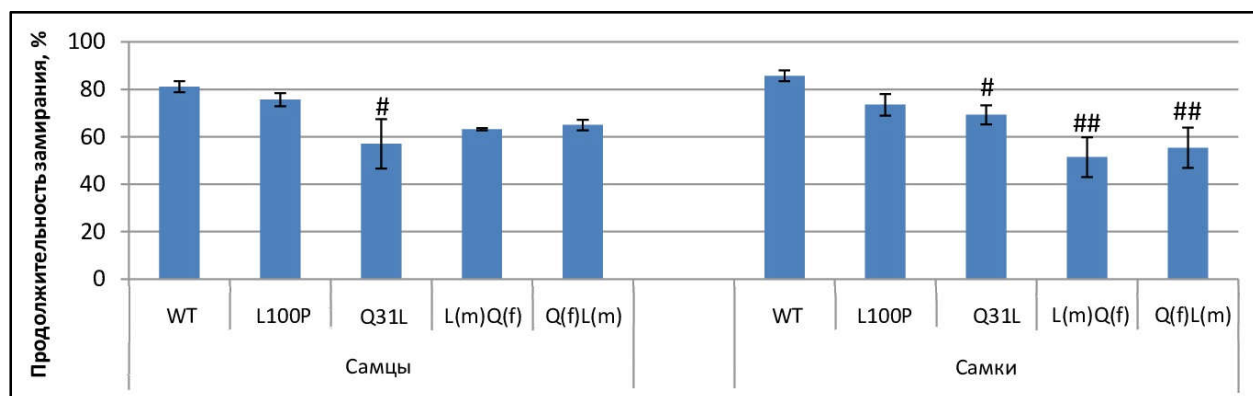


Рис. 12. Продолжительность замирания в тесте вынужденного плавания у мутантных по *Disc1* мышей в сравнении с диким типом. # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ по сравнению с WT.

Согласно литературным данным гомозиготные по Q31L мыши проявляют поведенческое отчаяние (Lipina & Roder, 2014). В нашей работе гетерозиготные мыши, напротив, проводят меньше времени в неподвижности, что говорит о неоднозначном влиянии данной мутации в гетерозиготном состоянии на эмоциональный статус животных. Сочетанное же влияние проявлялось у самок вне зависимости от материнского окружения.

Для того чтобы исключить влияние на полученные данные нарушений локомоторной активности, был проведен тест «открытое поле». Анализ MANOVA показал эффект пола ($F(1,109)=4,21$; $p < 0.05$) на вертикальную активность, однако post-hoc анализ выявил различия только у самцов Q31L(f)/L100P(m), которые совершали больше стоек по сравнению с гетерозиготными по Q31L самцами ($p < 0.05$). Отличий в горизонтальной активности не было показано ($p > 0.05$).

Согласно литературе гомо-, но не гетерозиготные, самцы с мутацией *Disc1*-L100P проявляют гиперактивность в ОП (Clarcote et al., 2007), но есть и данные в пользу повышенной двигательной активности и у гетерозиготных самцов и самок (Walsh et al., 2012). Наша работа, таким образом, подтверждает данные 2007 года. В целом, отсутствие повышенной двигательной активности может объясняться различиями в методике проведения ОП, так, например, в исследовании (Cui et al.,

2016) 10-минутный тест не показал отличий в активности гомозиготных по L100Pсамцов от контроля, так же как и в данной работе, поскольку использовалось регулярное освещение экспериментальной установки, а не более интенсивное освещение (500-600 Люкс), при котором данная линия проявляет гиперактивность (Lipina et al., 2010). В контексте нашей работы отсутствие повышенной или пониженной относительно дикого типа активности у исследуемых групп мышей позволяет считать результаты теста «вынужденное плавание» корректными для определения у них депрессивноподобного поведения, а теста на закапывание шариков – компульсивноподобного поведения.

С помощью ANOVA было обнаружено влияние взаимодействия генотипа и пола ($F(4,62)=3,2469$; $p<0.05$) на количество полностью закопанных шариков. Post-hoc анализ показал достоверные отличия между следующими группами (рис. 13): самцы Q31L(f)/L100P(m) и самки L100P(f)/Q31L(m) закапывали больше шариков, чем мыши дикого типа того же пола; самцы Q31L(f)/L100P(m) в сравнении с самками закапывали больше шариков, а самцы L100P(f)/Q31L(m), наоборот, меньше; при этом самцы Q31L(f)/L100P(m) закапывали больше шариков по сравнению с самцами L100P(f)/Q31L(m), но самки Q31L(f)/L100P(m) закапывали их меньше, чем самки L100P(f)/Q31L(m); также самки L100P(f)/Q31L(m) закапывали больше шариков, чем гетерозиготные самки Q31L ($p<0.05$).

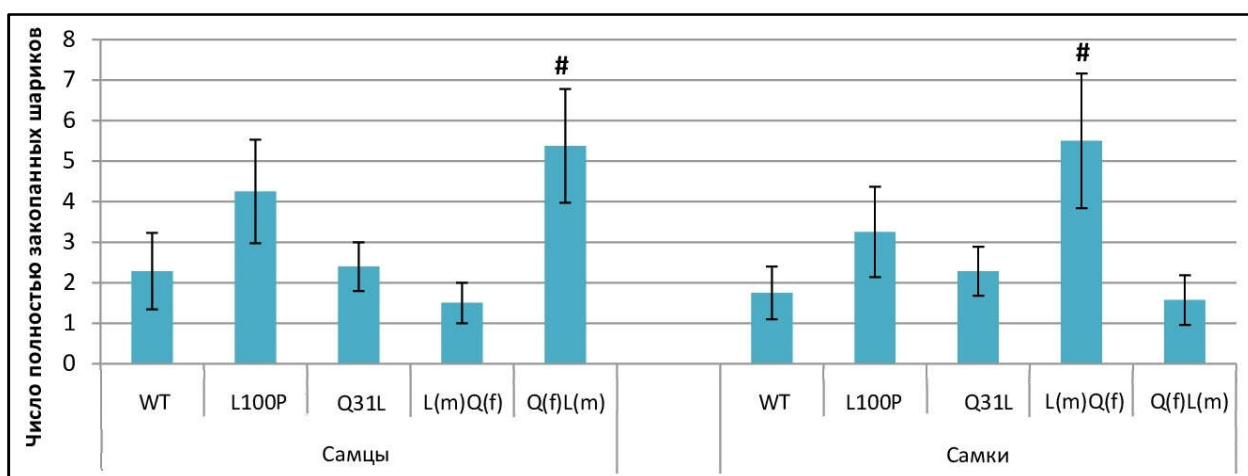


Рисунок 13. Количество закопанных шариков (в штуках) у мутантных по *Disc1* мышей в сравнении с диким типом. # – $p<0.05$, по сравнению с WT.

Примечательно, что в данном тесте отсутствовали различия между самками и самцами, кроме мышей с двумя мутациями. Проявление компульсивноподобного

поведения у двойных мутантов происходило в зависимости как от пола и от материнского окружения. Такие отличия можно объяснить ролью связанных с DISC1 процессов нейроразвития – именно в этом периоде происходит основная роль DISC1 и расхождение по пути формирования межполовых отличий ГМ.

Также была проведена оценка тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте. ANOVA не обнаружил отличий ни во времени, проведенном в закрытых/открытых рукавах лабиринта, ни в частоте заглядываний под лабиринт ($p>0.05$), но дальнейший post-hoc анализ показал достоверное отличие самок L100P(f)/Q31L(m), проводивших больше времени в открытых рукавах лабиринта, от самцов этого генотипа (рис. 14).

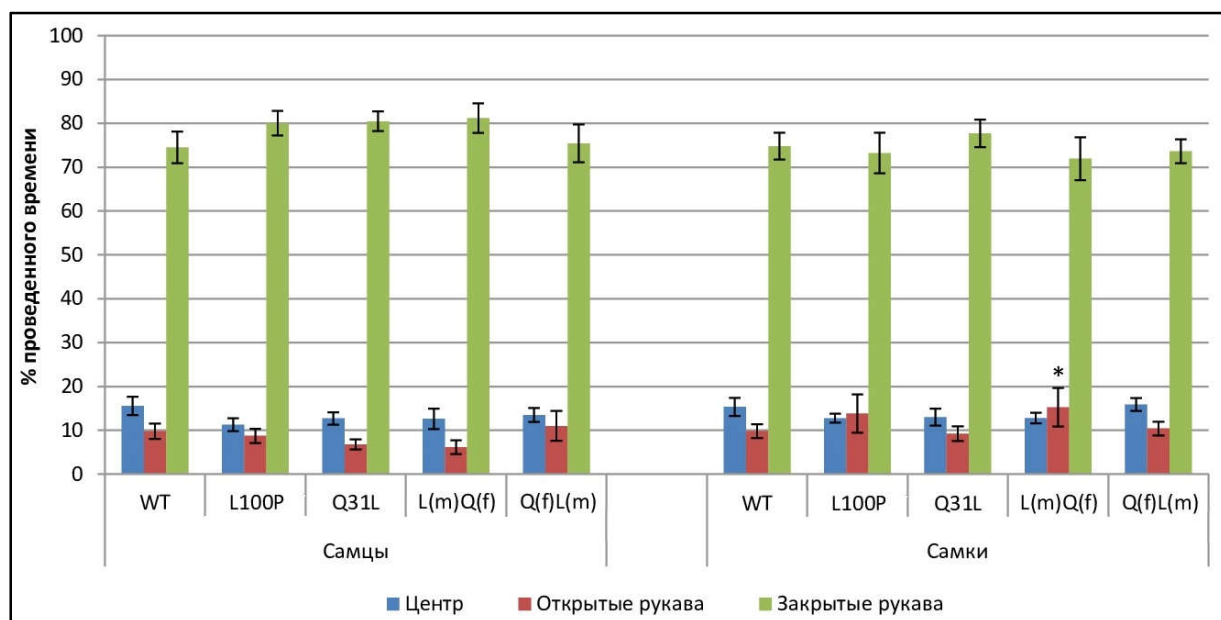


Рис. 14. Продолжительность пребывания в рукавах приподнятого крестообразного лабиринта у мутантных по *Disc1* мышей в сравнении с диким типом. * – $p<0.05$, по сравнению с самцами.

3.3.3. Социальное поведение мышей с двумя мутациями в гене *Disc1* в зависимости от влияния матери

Анализ RMANOVA показал эффект пола ($F(4,82)=5,218$; $p<0.05$) на предпочтение живого объекта неживому и генотипа ($F(4,82)=2,907$; $p<0.05$) – незнакомого партнера знакомому. Дальнейший post-hoc анализ выявил различия в социальной мотивации (рис. 15A): самки WT и L100P-het проводили меньше времени рядом с мышью по сравнению с самцами, при этом самки Q31L-het и

L100P(f)/Q31L(m) – больше относительно WT, а Q31L(f)/L100P(m) меньше, чем самки Q31L-het ($p<0.01$). Время, проведенное в секторах А и В, достоверно отличалось в каждой группе ($p<0.01$). Были также выявлены различия в социальном распознавании (рис. 15Б).

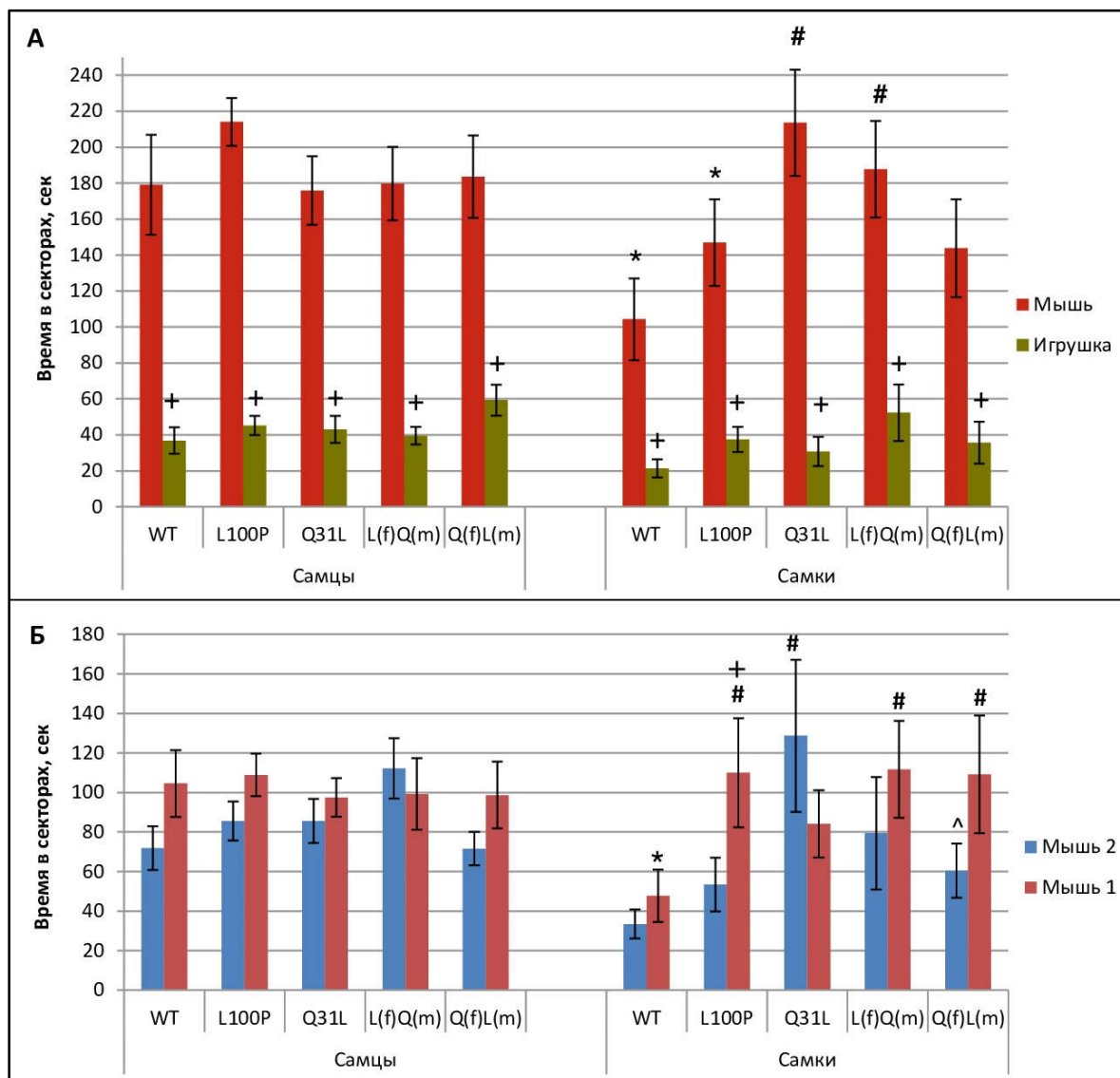


Рисунок 15. Социальная мотивация (А) и распознавание (Б) – время, проведенное в секторах с мышью/игрушкой (2 сессия) и знакомой/незнакомой мышью (3 сессия) – у мутантных по *Disc1* мышей в сравнении с диким типом. # – $p<0.05$, по сравнению с WT; * – $p<0.05$, по сравнению с самцами; + – $p<0.05$, по сравнению с другим сектором.

Самки WT меньше, чем самцы, проводили времени рядом со знакомой мышью. У самок L100P-het, L100P(f)/Q31L(m) и Q31L(f)/L100P(m) этот показатель был выше относительно WT; самки Q31L-het, напротив, больше проводили

времени с незнакомой мышью по сравнению с WT, а также L100P-het и Q31L(f)/L100P(m). При этом только самки L100P-het показали отличие между секторами – они проводили больше времени рядом со знакомой мышью ($p<0.05$). Другие группы в этой сессии не отличались ($p>0.05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что социальная мотивация у мышей не была нарушена ни в одной из исследованных групп, однако у самок наблюдался разброс в зависимости от генотипа во времени, проведенном рядом с мышью. То же наблюдалось и во время 3й сессии. Такая устойчивость самцов к влиянию мутаций в *Disc1* может объясняться характерным для самцов агрессивным поведением (не исследовалось в отдельном тесте), которое «перекрывало» все возможные более слабые влияния мутаций в гетерозиготном состоянии, тогда как у самок такая лидирующая мотивация к общению отсутствовала (Weber et al., 2022; Granza et al., 2023).

3.4. Коррекция шизофреноподобного поведения мутантных по гену *Disc1* мышей с помощью диеты, обогащенной ω -3 ПНЖК

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт». Среди основных показателей тревожности с помощью многофакторного ANOVA выявлены различия в предпочтении рукавов лабиринта. Найдено влияние: пола [$F(1,120)=5,912$; $p<0.05$] и взаимодействия генотип \times диета [$F(3,120)=3,182$; $p<0.05$] (а также тенденции к влиянию генотипа [$F(3,120)=2,536$; $p=0.06$] и диеты [$F(1,120)=3,789$; $p=0.054$]) на время, проведенное в открытых; диеты [$F(1,122)=4,416$; $p<0.05$] (и тенденция к совместному влиянию генотип \times пол \times диета [$F(3,122)=2,474$; $p=0.0648$]) – в закрытых рукавах; диеты [$F(3,126)=3,018$; $p<0.05$] и взаимодействия генотип \times диета [$F(3,126)=2,702$; $p<0.05$] – в центре лабиринта. У самок WT на экспериментальной диете обнаружено сниженное предпочтение открытых рукавов по сравнению с самками WT на контрольной диете ($p<0.01$; рис. 16), а в остальном в этой группе отличий не показано.

Самцы Q31L-het проводили больше времени в закрытых рукавах и меньше в центре установки в сравнении с диким типом, а также самцами этого генотипа на контрольной диете ($p<0.05$). Самцы L100P-het проводили больше времени в открытых рукавах ($p<0.05$) и центре лабиринта ($p<0.01$) и меньше – в закрытых, чем Q31L-het ($p<0.01$).

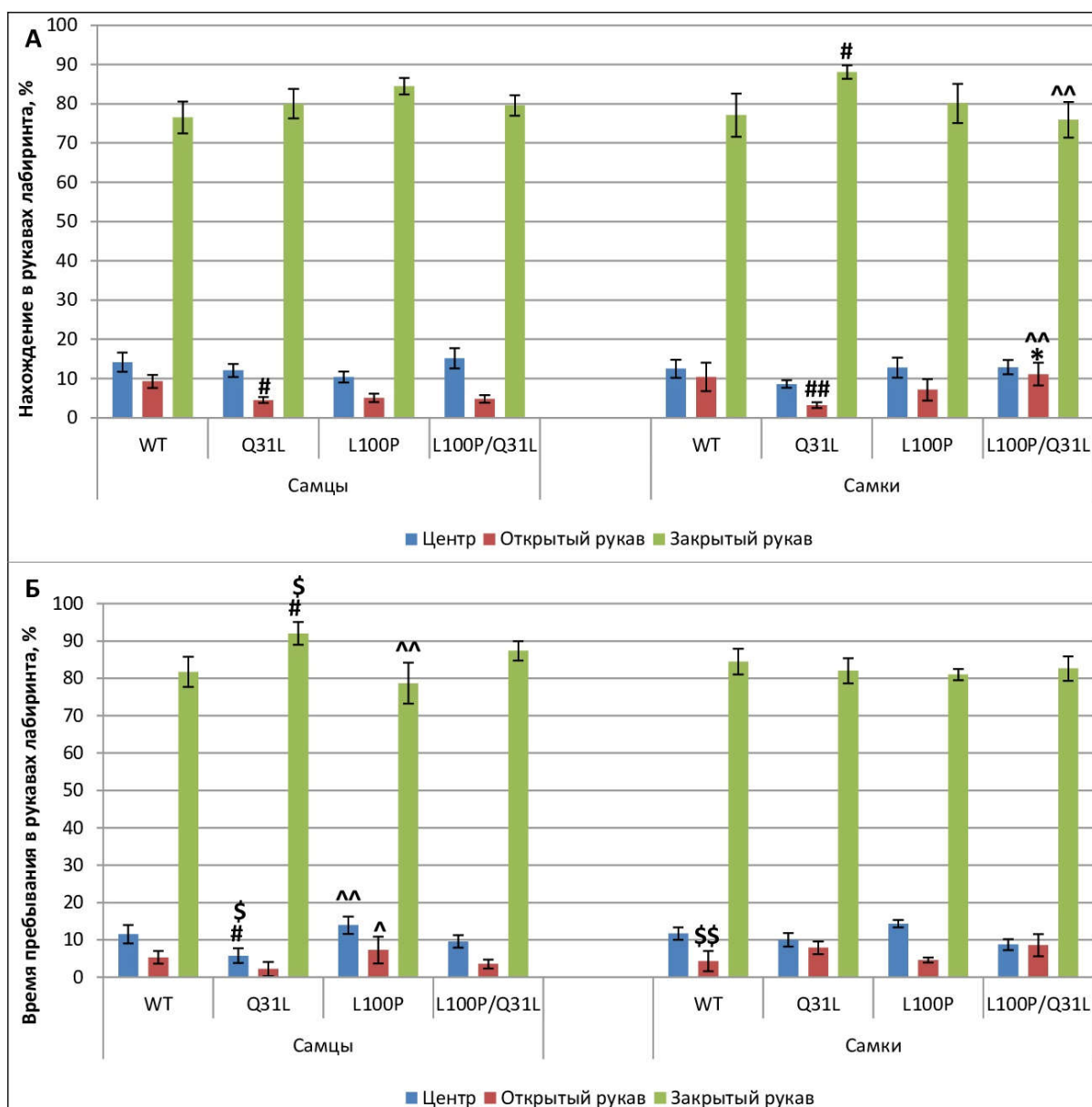


Рис. 16. Продолжительность пребывания в рукавах приподнятого крестообразного лабиринта у мутантных по *Disc1* мышей на контрольной (А) и экспериментальной диетах (Б) в сравнении с диким типом. * – $p < 0.05$ по сравнению с самцами; # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ по сравнению с WT; ^ – $p < 0.05$, ^^ – $p < 0.01$ по сравнению с Q31L; \$ – $p < 0.05$, \$\$ – $p < 0.01$ по сравнению с мышами на контрольной диете.

Обнаружены эффекты генотипа [$F(1,126)=5,629$; $p < 0.05$], взаимодействия генотип×диета [$F(3,126)=4,762$; $p < 0.01$] и генотип×пол×диета [$F(3,126)=5,624$; $p < 0.01$] на частоту заглядываний под лабиринт (head-dips). На экспериментальной диете, напротив, самцы Q31L-het совершали наименьшее количество заглядываний

по сравнению с другими самцами ($p < 0.01$), которые так же не отличались между собой ($p > 0.05$). Соответственно, самцы Q31L-het заглядывали меньше, а L100P-het и L100P/Q31L – больше, чем самцы того же генотипа на контрольной диете ($p < 0.01$). Самки Q31L-het больше заглядывали ($p < 0.05$), а L100P-het и L100P/Q31L – меньше, чем самцы ($p < 0.01$).

Тест «Открытое поле». Трехфакторный MANOVA выявил влияние генотипа [$F(3,129)=3,998$; $p < 0.01$], пола [$F(1,129)=7,046$; $p < 0.01$] и диеты [$F(1,129)=9,521$; $p < 0.01$] на двигательную активность (пройденный путь). Также обнаружена тенденция к взаимному влиянию генотипа и диеты [$F(3,129)=2,65$; $p=0.0516$]. Post-hoc анализ показал, что диета, обогащенная ω -3 ПНЖК, увеличивала двигательную активность (рис. 17) у самцов L100P-het и самок Q31L-het ($p < 0.05$) и L100P-het ($p < 0.01$), при этом на активность у дикого типа диета не влияла ($p > 0.05$). Достоверное отличие от WT на этой диете показали только самки L100P/Q31L ($p < 0.05$) – они, как и контрольные, были менее подвижны, а влияния диеты на эту группу не было показано ($p > 0.05$). Также была обнаружена большая, чем у самцов, подвижность у самок Q31L-het ($p < 0.05$) и меньшая – у самок L100P/Q31L по сравнению с Q31L-het ($p < 0.01$) и L100P-het ($p < 0.05$).

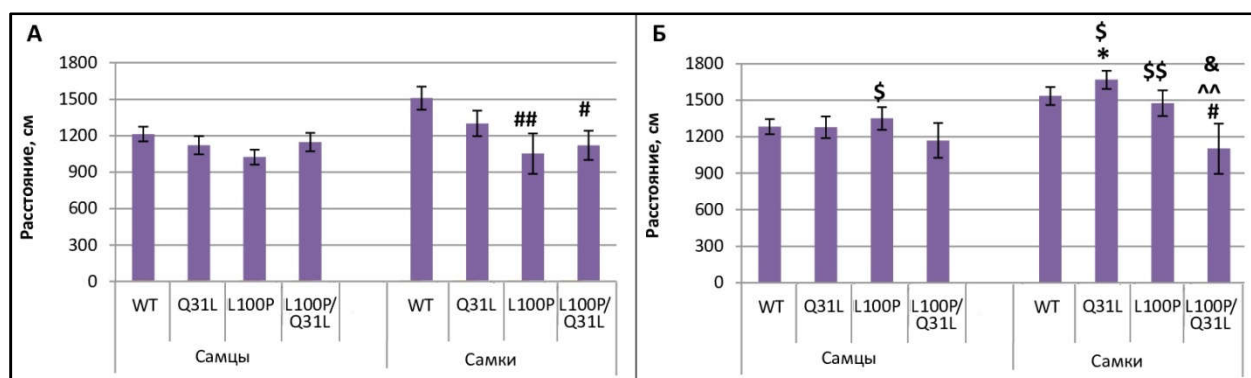


Рис. 17. Двигательная активность в тесте «Открытое поле» у мутантных по *Disc1* мышей на контрольной (А) и экспериментальной диетах (Б) в сравнении с диким типом. * – $p < 0.05$ по сравнению с самцами; # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ по сравнению с WT; ^ – $p < 0.01$ по сравнению с Q31L; & – $p < 0.05$ по сравнению с L100P; \$ – $p < 0.05$, \$\$ – $p < 0.01$ по сравнению с мышами на контрольной диете.

Также был обнаружен эффект генотипа [$F(3,119)=2,7$; $p < 0.05$] и взаимодействия генотипа и пола [$F(3,119)=4,797$; $p < 0.01$] и генотипа и диеты

[F(3,119)=6,463; $p<0.001$] на длительность замирания при посадке в установку. Экспериментальная диета уменьшала время замирания у самцов ($p<0.01$) и самок дикого типа и самок L100P-het ($p<0.05$), но увеличивала у самцов с двумя мутациями ($p<0.05$). Выявлено и влияние взаимодействия генотип×диета [F(3,126)=3,84; $p<0.05$] на продолжительность пребывания мыши в центре ОП. Также проявилась тенденция к влиянию взаимодействия генотип×пол [F(3,126)=2,575; $p=0.0568$]. Влияния диеты не было показано, а самки L100P/Q31L проводили меньше времени в центре, чем Q31L-het и L100P-het ($p<0.05$; рис. 18).

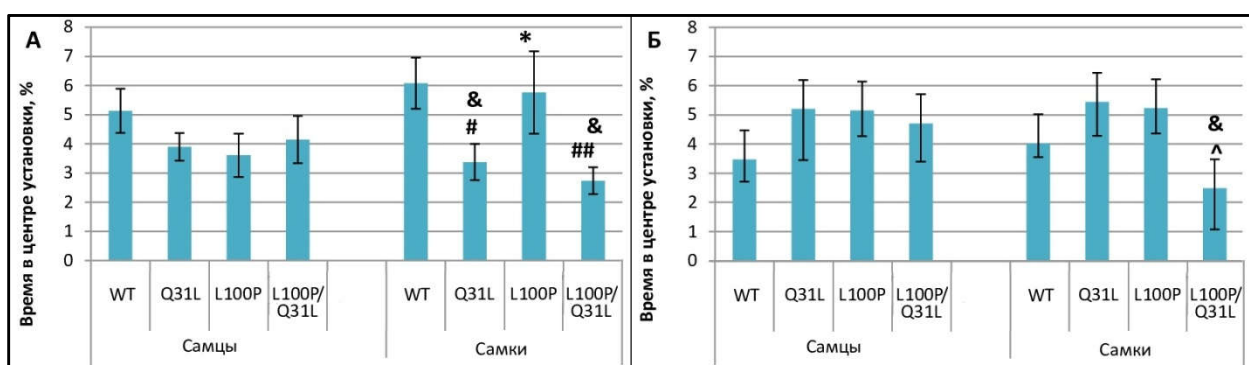


Рис. 18. Продолжительность нахождения в центре открытого поля у мутантных по *Disc1* мышей на контрольной (А) и экспериментальной диетах (Б) в сравнении с диким типом. * – $p<0.05$ по сравнению с самцами; # – $p<0.05$, ## – $p<0.01$ по сравнению с WT; ^ – $p<0.05$ по сравнению с Q31L; & – $p<0.05$ по сравнению с L100P.

Тест «Подвешивание за хвост». Анализ ANOVA обнаружил влияние генотипа [F(3, 129)= 2,954; $p<0.05$]. На экспериментальной диете только самцы L100P/Q31L показывали меньшее замирание относительно WT ($p<0.01$; рис. 19).

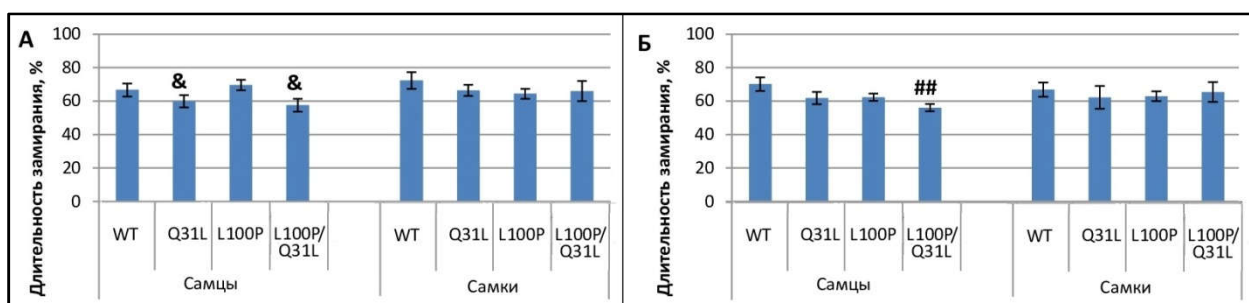


Рис. 19. Продолжительность замирания при подвешивании за хвост у мутантных по *Disc1* мышей на контрольной (А) и экспериментальной диетах (Б) в сравнении с диким типом. ## – $p<0.01$ по сравнению с WT; & – $p<0.05$ по сравнению с L100P.

Тест на социальную мотивацию. Анализ с помощью повторных измерений ANOVA выявил эффект фактора «мышь» (повторное измерение, то есть реакция тестируемой мыши на предъявление живого объекта после неживого) [F(1,66)=185,162; $p<0.001$] на время, проведенное в зонах А и Б, и число заходов в них [F(1,67)=77,117; $p<0.001$]. Также на время нахождения в зонах повлияло взаимодействие «мышь»×диета [F(1,66)=4,355; $p<0.05$]. Все самцы, за исключением контрольных WT, демонстрировали предпочтение социального контакта, проводя больше времени у цилиндра с мышью внутри и чаще подходя к нему ($p<0.01$). Кроме того, у самцов L100P-het на экспериментальной диете отмечено большее время, проведенное рядом с мышью, чем у контрольных L100P-het самцов ($p<0.05$; рис. 20).

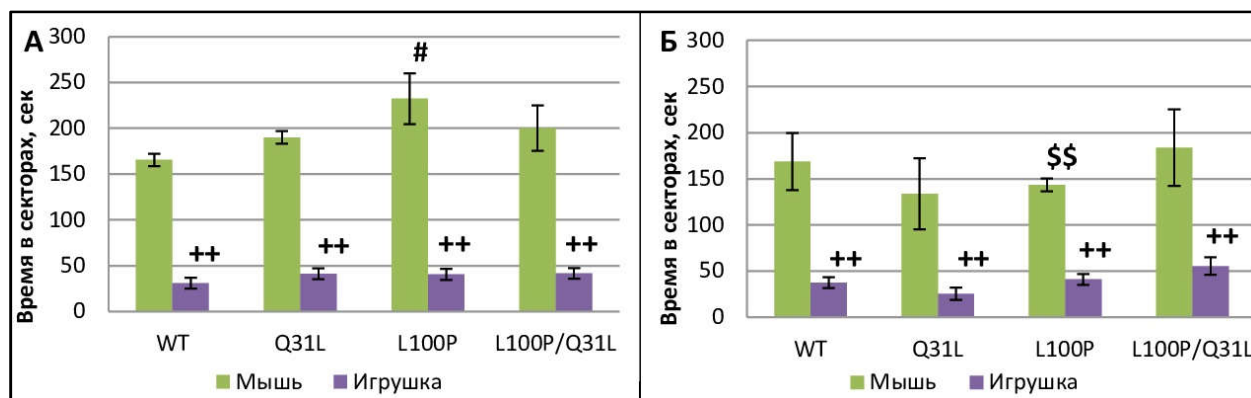


Рис. 20. Время, проведенное в секторах рядом с цилиндрами (с мышью и игрушкой) у мутантных по *Disc1* самцов на контрольной (А) и экспериментальной диетах (Б) в сравнении с WT. # – $p<0.05$ по сравнению с WT; \$\$ – $p<0.01$ по сравнению с мышами на контрольной диете; ++ – $p<0.01$ по сравнению с мышью

Тест «Т-образный лабиринт». Обнаружено влияние генотипа [F(3,128)=5,6163; $p<0.01$], а также тенденция к влиянию взаимодействия генотипа и диеты [F(3,128)=2,576; $p=0.0567$], на количество совершенных входов в рукава лабиринта, что отражает двигательную активность. У самок L100P/Q31L и на контрольной, и на экспериментальной диете было показано меньшее их количество по сравнению с диким типом ($p<0.05$). На диете, обогащенной ω -3, также обнаружена меньшая, по сравнению с Q31L-het, двигательная активность у самок L100P-het и самцов ($p<0.05$) и самок L100P/Q31L ($p<0.01$).

На спонтанное чередование эффект оказывали пол [F(1,122)=11,051; $p<0.01$] и взаимодействие генотип×пол [F(3,122)=2,913; $p<0.05$]. Среди мышей на экспериментальной диете самцы Q31L-het и L100P/Q31L показали больше спонтанных чередований по сравнению с WT, а самки L100P/Q31L – меньше ($p>0.05$; рис. 21). Самки Q31L-het ($p<0.05$) и L100P/Q31L ($p<0.01$) совершали их меньше, чем самцы. Эти показатели ни у одной группы не отличался от мышей на другой диете ($p>0.05$).

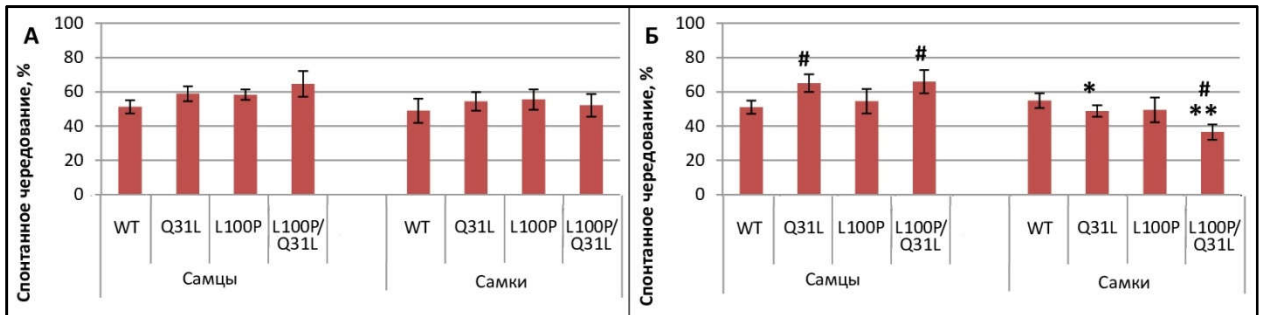


Рис. 21. Спонтанное чередование в тесте «Т-образный лабиринт» у мутантных по *Disc1* мышей на контрольной (А) и экспериментальной диетах (Б) в сравнении с диким типом. * – $p<0.05$, ** – $p<0.01$ по сравнению с самцами; # – $p<0.05$ по сравнению с WT.

Тест «PPI». Обнаружен эффект пола на реакцию вздрагивания [F(1,122)=9,7601; $p<0.001$]. На экспериментальной диете самцы L100P-het ($p<0.05$; рис. 22) вздрагивали сильнее, а L100P/Q31L – слабее ($p<0.01$), чем на контрольной. Самки L100P-het на этой диете вздрагивали слабее самцов ($p<0.05$). Не было разницы между WT на контрольной и экспериментальной диетах ($p>0.05$).

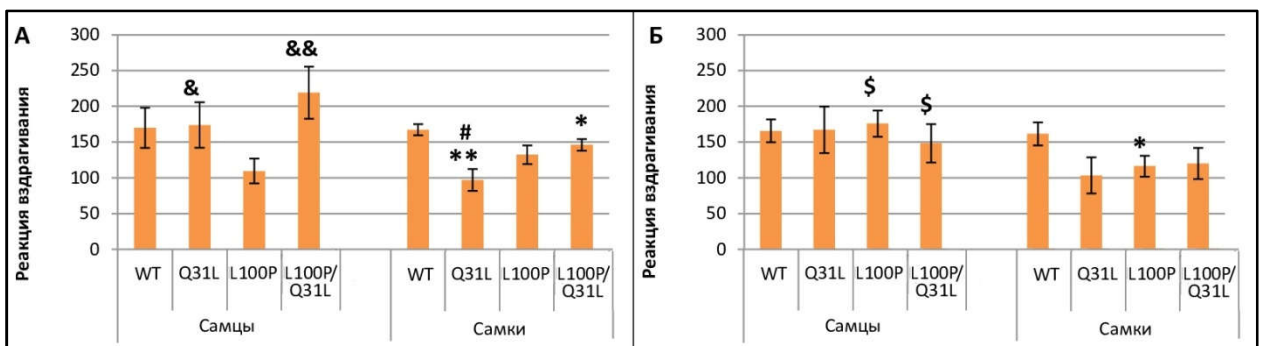
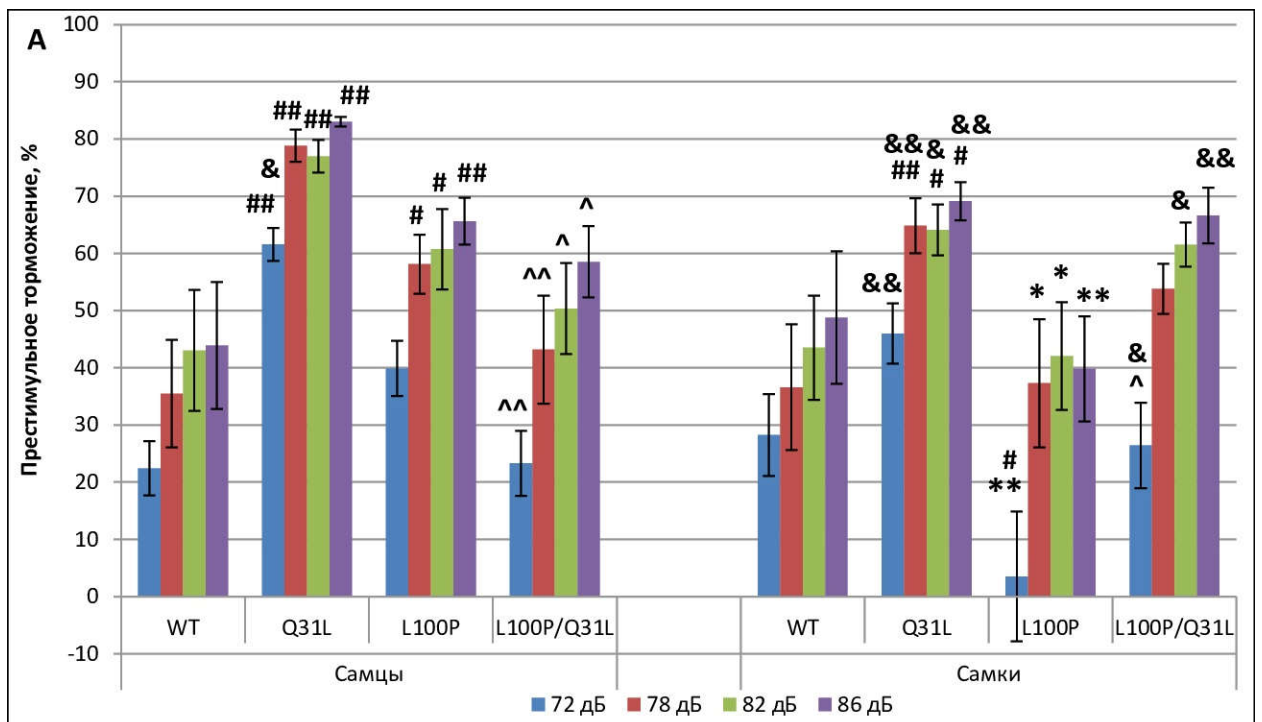


Рис. 22. Реакция вздрагивания у мутантных по *Disc1* мышей на контрольной (А) и экспериментальной диетах (Б) в сравнении с диким типом. * – $p<0.05$, ** – $p<0.01$ по сравнению с самцами; # – $p<0.05$ по сравнению с WT; & – $p<0.05$, && –

$p < 0.01$ по сравнению с L100P; \$ – $p < 0.05$ по сравнению с мышами на контрольной диете.

RMANOVA выявил эффекты генотипа [$F(3,123)=4,795$; $p < 0.01$], диеты [$F(1,123)=1,061$; $p < 0.01$] и престаимулов [$F(3,369)=192,058$; $p < 0.001$], а также взаимодействия генотип×диета [$F(3,123)=4,464$; $p < 0.01$] на PPI. Обнаружены и тенденции влияния пола [$F(1,123)=3,719$; $p=0.0561$] и взаимодействия генотип×пол×диета [$F(3,123)=2,509$; $p=0.0619$] и генотип×престимул [$F(9,369)=1,853$; $p=0.0579$]. Post-hoc анализ данных мышей на обогащенной ω -3 ПНЖК диете показал повышение торможения реакции вздрагивания у следующих мышей: самки и самцы WT в ответ на сигналы 78, 82 и 86 дБ ($p < 0.01$; и самцы WT на 72 дБ – $p < 0.05$; рис. 23); самки L100P-het в ответ на стимулы мощностью 72, 86 ($p < 0.01$) и 82 дБ ($p < 0.05$); самцы L100P/Q31L в ответ на 72, 86 ($p < 0.05$) и 82 дБ ($p < 0.01$). Влияния диеты на самцов Q31L-het и L100P-het и самок Q31L-het и L100P/Q31L не обнаружено ($p > 0.05$).

На экспериментальной диете самки L100P/Q31L показали сниженное торможение реакции вздрагивания относительно WT в ответ на сигнал 78 и 82 дБ ($p < 0.05$), а также в ответ на 82 дБ по сравнению с самцами ($p < 0.01$), которые в свою очередь показали большее торможение, чем самцы L100P-het ($p < 0.05$).



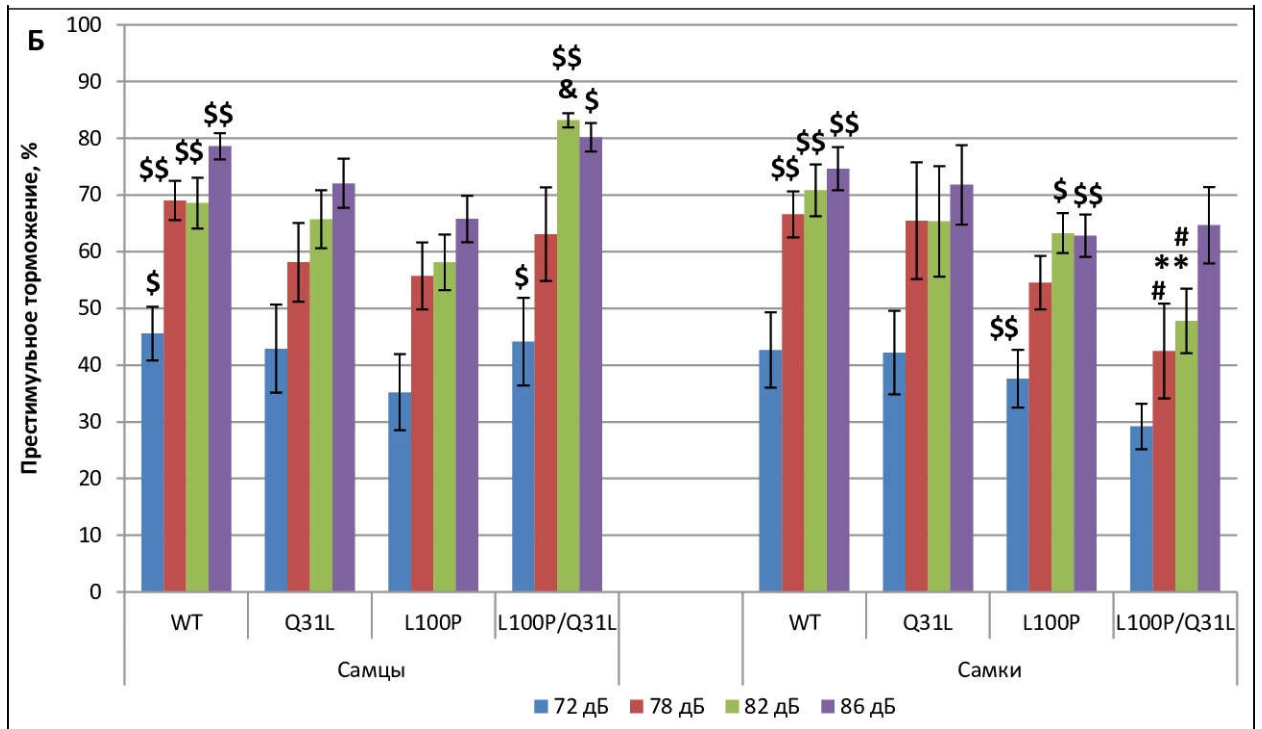


Рис. 23. Престимуляторное торможение реакции вздрагивания у мутантных по *Disc1* мышей на контрольной (А) и экспериментальной диетах (Б) в сравнении с диким типом. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ по сравнению с самцами; # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$ по сравнению с WT; ^ – $p < 0.05$, ^^ – $p < 0.01$ по сравнению с Q31L; & – $p < 0.05$, && – $p < 0.01$ по сравнению с L100P; \$ – $p < 0.05$, \$\$ – $p < 0.01$ по сравнению с мышами на контрольной диете.

Тест на выработку УРПИ (память страха). Не найдено различий между группами в латентном времени перехода в темный отсек ($p > 0.05$).

Итак, двигательная активность мышей, за исключением самок Q31L/L100P, на такой диете не отличались от WT. При этом относительно контрольной диеты эта группа не отличалась, а многие другие – повысили показатели. В Т-образном лабиринте эта группа так же, как и среди мышей на контрольной диете, была менее подвижна. Рабочая память в Т-образном лабиринте увеличивалась у самцов Q31L-het и Q31L/L100P и уменьшалась у самок с двумя мутациями. Показатели социальной мотивации перестали отличаться от WT. В тесте на депрессивноподобное поведение, самцы Q31L/L100P проявляли большую активность. Тревожность в тестах не отличалась от мышей WT того же пола, кроме самцов Q31L-het – они были более тревожными в ПКЛ, отличаясь и от группы на контрольной диете, которая, в свою очередь не показывала большей, чем WT,

тревожности. Изменения в исследовательской активности (количество заглядываний под лабиринт) носили неоднозначный характер: с одной стороны, у самцов L100P-het и Q31L/L100P достоверно увеличивалась на экспериментальной диете, все так же не отличалась от WT, а с другой, у самцов Q31L-het, наоборот, уменьшилась, став ниже WT. Подобные отличия у Q31L-het могут объясняться не только влиянием самой диеты, но и тем, что группы на разных диетах происходили от разных родительских гнезд, таким образом, мыши объединялись не случайно, и небольшие различия в возрасте самих мышей и генетическом фоне их родителей могли повлиять на данные показатели. Диета, обогащенная ω -3 ПНЖК, оказывала корректирующее влияние на престаимпульное торможение реакции вздрагивания у самцов Q31L/L100P и самок L100P-het, и, в целом, группы, кроме самок Q31L/L100P, были значительно выровнены. На самок с двумя мутациями диета не повлияла, и их PPI в ответ на стимулы 78 и 82 дБ были ниже, чем у дикого типа. На основании этих данных в совокупности с результатами о двигательной активности, можно предположить у самок Q31L/L100P более стабильный фенотип.

Расхождение некоторых показателей, полученных в контроле в этом и предыдущем разделе, объясняется разными условиями содержания животных для этих экспериментов: в разделе 3.1 они получали стандартный корм, а в 3.2 – диету, обогащенную жирами в аналогичном соотношении, но с намного меньшим содержанием ω -3 ПНЖК, чем в экспериментальной. Тем не менее, содержание в нем ω -3 и ω -6 ПНЖК отличается от стандартного корма, а, следовательно, может воздействовать на поведение мышей как в сторону улучшения, так и ухудшения показателей (например, из-за провоспалительного эффекта ω -6 ПНЖК).

3.5. Коррекция шизофреноподобного поведения мутантных по гену *Disc1* мышей с помощью блокатора STEP

В открытом поле MANOVA выявил влияние генотипа [$F(1,21)=7,1$; $p<0.001$] и препарата [$F(1,21)=8,1$; $p<0.001$] на основной показатель двигательной активности (пройденный путь). Введение ТС-2051 снижало двигательную активность у мышей обоих генотипов в сравнении с контролем ($p<0.01$), что приближало значение у L100P-hom к значению у дикого типа без препарата ($p>0.05$).

RMANOVA выявил влияние генотипа [$F(1,28)=4,693$; $p<0.05$] и престаимулов [$F(3,84)=51,842$; $p<0.05$] на PPI, тогда как влияние ТС-2051 проявилось на уровне

тенденции [$F(1,28)=3,845$; $p=0,0599$]. Мыши L100P-hom показали сниженное PPI относительно дикого типа ($p<0.05$; рис. 24), а введение ТС-2051 незначимо повышало у них этот показатель при громкости престоимулов 82 и 86 дБ ($p=0.076$). Примечательно, что на фоне введения препарата PPI у мышей L100P-hom при 86 дБ становилось неотличимым от значений у WT ($p>0.05$).

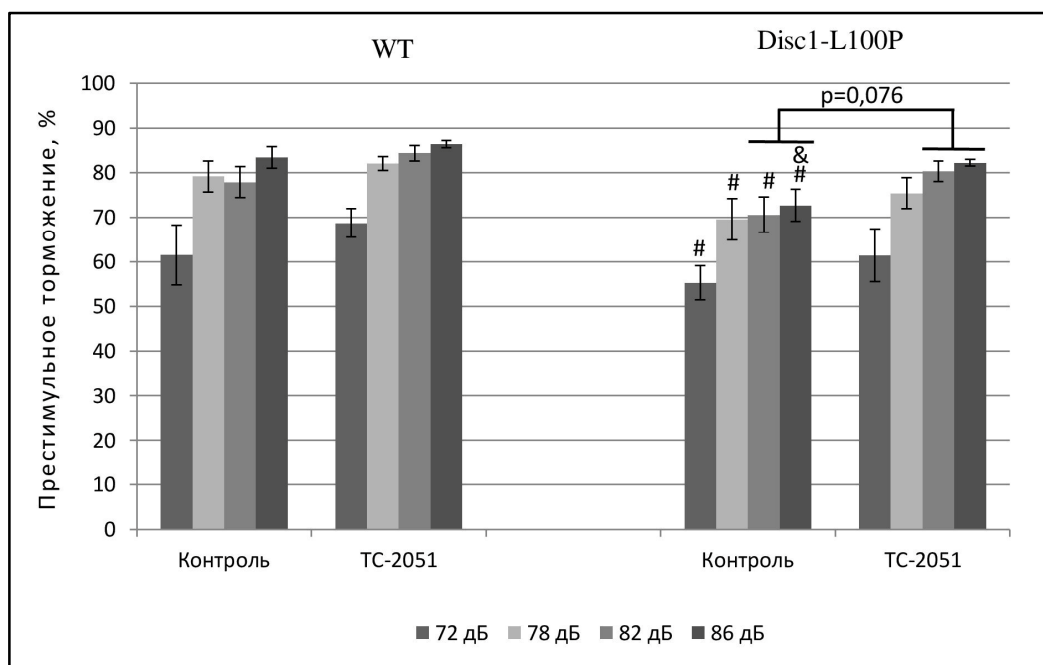


Рис. 24. Престимульное торможение реакции вздрагивания у мышей L100P-hom по сравнению с группой дикого типа при введении ТС-2051 и растворителя (контроль). # – $p < 0.05$ – по сравнению с WT-ТС2051; & – $p < 0.05$ – по сравнению с WT-контроль.

В тесте «латентное торможение» ANOVA показал влияние условий (с преэкспозицией и без) [$F(1,63)=14,433$; $p<0.001$] на среднее время замирания мышей в ответ на звуковой стимул в течение 5 минут. Выявлены различия между группами мышей L100P-hom без и с преэкспозицией на фоне введения ТС-2051 ($p<0.05$; рис. 25), что характерно для здоровых мышей. При анализе этого же показателя для каждых 30 секунд в указанный период времени RMANOVA подтвердил этот эффект [$F(1,63)=14,433$; $p<0.001$], а также обнаружил влияние времени [$F(9,567)=6,3$; $p<0.001$] на латентное торможение, однако влияния вещества не было найдено [$F(1,63)=0,0015$; $p=0,97$].

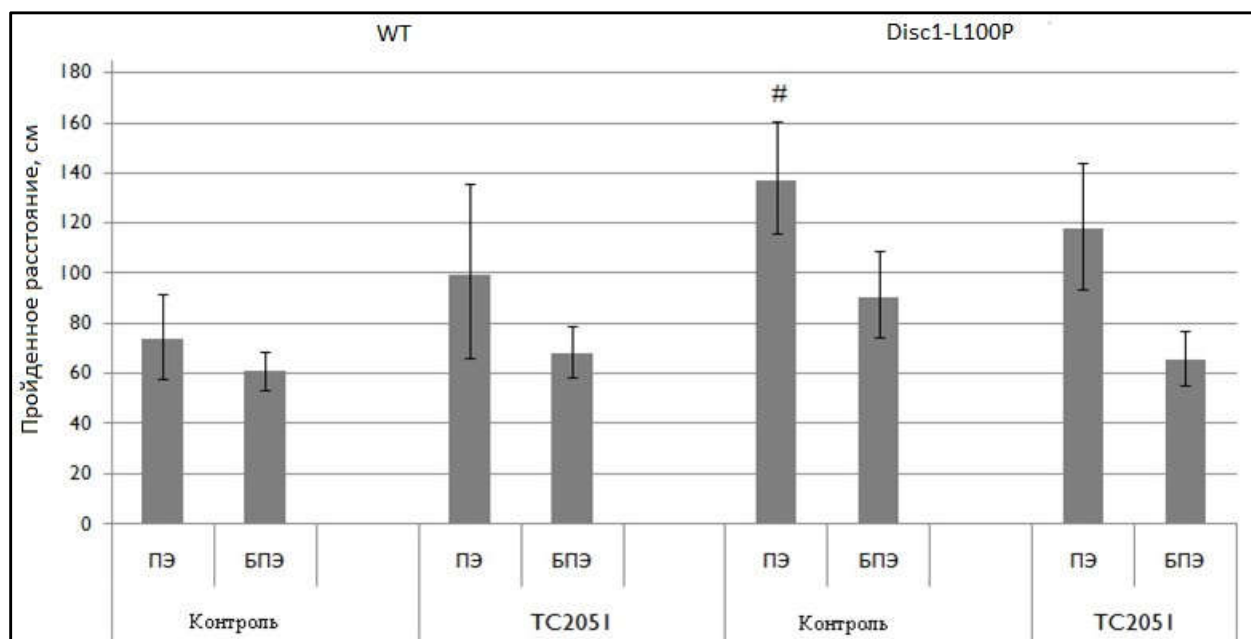


Рис. 25. Латентное торможение у мышей L100P-гом по сравнению с группой дикого типа при введении ТС-2051 и растворителя (контроль). # – $p < 0.05$ – по сравнению с WT.

Тестирование блокатора STEP ТС-2051 показало, что его острое введение в дозе 10 мг/кг повышало у мышей L100P-гом сниженную реакцию вздрагивания (PPI) до контрольных значений и снижало их гиперактивность в открытом поле. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования соединений ряда бензопентатиепинов, блокирующих STEP, в качестве новых антипсихотиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе исследованы нарушения поведения у мышей C57BL/6NCr1, несущих мутации L100P и Q31L в гене *Disc1*. Показано, что наличие каждой из этих мутаций по отдельности в гетерозиготном состоянии не влияло на сенсорно-моторную фильтрацию информации, рабочую память, латентное торможение памяти о страхе, двигательную активность в открытом поле и тревожность в ПКЛ.

Было установлено, что сочетанное влияние обеих мутаций (компаунд-гетерозиготы, *Disc1*^{L100P/Q31L}) приводит к дефициту престаимпульного торможения реакции вздрагивания и у самцов, и у самок, чьими матерями были гомозиготные по *Disc1*-Q31L мыши. Этот результат позволяет предположить наличие у компаунд-гетерозигот предрасположенности к дефициту PPI, который проявляется в зависимости от внешних факторов в период раннего развития (пренатальная среда и материнское поведение). Поскольку нарушения PPI характерны для психотических расстройств и могут наблюдаться не только у больных шизофренией, но и у их здоровых родственников, а также в продромальном периоде заболевания, то такая особенность может считаться одним из клинически регистрируемых проявлений заболевания на раннем этапе течения расстройства. Таким образом, мыши *Disc1*^{L100P/Q31L} могут быть полезны при исследовании подходов к предупреждению шизофрении и её лечению на раннем этапе.

Несмотря на известный из литературы депрессивный эффект мутации *Disc1*-Q31L в гомозиготном состоянии (Clapcote et al., 2007), в нашей работе гетерозиготные по ней мыши проводили меньше времени в неподвижности в тесте принудительного плавания. Сочетанное же влияние мутаций L100P и Q31L проявлялось у самок вне зависимости от материнского окружения – обе группы (L100P(f)/Q31L(m) и Q31L(f)/L100P(m)) проводили в неподвижности меньше времени относительно дикого типа, тогда как самцы имели только тенденцию к такой разнице. Отсутствие повышенной активности в ОП свидетельствует, что данные эффекты мутации *Disc1*-Q31L не связаны с локомоторными изменениями, а оказывают влияние на эмоциональную сферу поведения. Такая неоднозначность влияния данной мутации в гетерозиготном состоянии интересна для дальнейшего исследования.

Расстройства эмоционального спектра, к которым относится и депрессия, часто связаны с компульсивным поведением. В нашей работе гетерозиготные мыши не показали отличий от WT в компульсивноподобном поведении, однако мыши *Disc1*^{L100P/Q31L} в зависимости от пола и материнского окружения проявляли компульсивноподобное поведение: больше шариков в соответствующем тесте закапывали самцы, чьи матери были гомозиготами по *Disc1*-Q31L, и самки, чьи матери были гомозиготами по *Disc1*-L100P. Такие отличия можно объяснить ролью связанных с DISC1 процессов нейроразвития в формировании компульсивноподобного поведения, поскольку именно в пренатальном периоде проявляется как основная роль DISC1, так и расхождение по пути формирования межполовых отличий ГМ, а также уязвимость этих процессов к стрессорам внешней среды.

Следует отметить, что социальная мотивация и распознавание не были нарушены ни в одной из исследованных групп, однако у самок наблюдался разброс показателей в зависимости от генотипа. Такая устойчивость самцов к влиянию мутаций L100P и Q31L в гене *Disc1* может объясняться характерным для самцов агрессивным поведением, которое не было нами исследовано в отдельном тесте. То есть у них присутствовала лидирующая мотивация к общению, «перекрывающая» все более слабые влияния мутаций в гетерозиготном состоянии, тогда как у самок она отсутствовала, и проявились эффекты мутаций.

Полученные в работе результаты показывают, что потребление корма, обогащенного ω -3 ПНЖК (соотношение ω -3/ ω -6 составляло приблизительно 4:1), мышами *Disc1*^{L100P/Q31L} оказывало корректирующий эффект на PPI у самцов, но не самок, что подтверждает положительное влияние ω -3 ПНЖК на поведенческие дефициты.

Введение блокатора STEP TC-2051 внутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг повышало у мышей L100P-гом сниженную реакцию вздрагивания (PPI) до контрольных значений и снижало их гиперактивность в открытом поле, то есть корректировало шизофреноподобное поведение. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования соединений ряда бензопентатиепинов, блокирующих STEP, в качестве новых антипсихотиков.

ВЫВОДЫ

1. Наличие у мышей в гене *Disc1* мутации L100P в гомозиготном состоянии приводило к более быстрому угашению реакции страха у самцов, но задержке этого угашения у самок, в то время как наличие мутации Q31L в гомозиготном состоянии приводила к более медленному угашению у самцов и самок, вплоть до полного его отсутствия у последних.

2. Выявлен материнский эффект на проявление шизофрено- и компульсивноподобного поведения у мышей *Disc1*^{L100P/Q31L}. Одновременное наличие у мышей в гене *Disc1* мутаций L100P и Q31L в гетерозиготном состоянии приводило к шизофреноподобному поведению у самцов и самок, чьи матери были гомозиготами по мутации *Disc1*-Q31L, компульсивноподобному поведению у самцов, чьи матери были гомозиготами по *Disc1*-Q31L, и у самок, чьи матери были гомозиготами по *Disc1*-L100P, а также к уменьшению депрессивноподобного поведения у самок вне зависимости от генотипа матери.

3. Потребление мышами, несущими в гетерозиготном состоянии мутации L100P и Q31L в гене *Disc1*, корма, обогащенного ω -3 ПНЖК, вызывало увеличение показателя PPI у самцов до значений дикого типа, но не у самок.

4. Внутривнутрибрюшинное введение блокатора STEP (шифр ТС-2051) гомозиготным мышам *Disc1*-L100P в дозе 10 мг/кг восстанавливало нарушенный PPI до контрольных значений и снижало их двигательную активность до значений у дикого типа без препарата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вялова Н.М. Роль BDNF в формировании депрессивных расстройств / Н.М. Вялова, Л.А. Левчук // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С.771-775.
2. Дубровина Н.И. Особенности формирования памяти о страхе у мышей с депрессивно- и шизофреноподобным фенотипами: влияние пола и возраста / Н.И. Дубровина, М.В. Храпова, Т.В. Липина // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2017. – Т. 103, № 1. – С. 10-21.
3. Коцюбинский А.П. Биопсихосоциальная модель шизофрении и ранние неадаптивные схемы. Часть 1. Уязвимость-диатез-стресс / А.П. Коцюбинский, А.Н. Еричев, В.О. Клайман, О.Д. Шмоница // Обзорение психиатрии и медицинской психологии имени В.М.Бехтерева. – 2016. – № 2. – С. 3-7.
4. Никифорова Ю.С. Уровень кортизола и BDNF при депрессии в структуре шизофрении: обоснование терапевтических подходов / Ю.С. Никифорова, Г.Э. Мазо // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14, № 3. – С.12-17.
5. Петров В.И. Клиническая фармакология современных антидепрессантов / В.И. Петров, В.С. Сергеев // Лекарственный вестник. – 2007. – Т. 2. – С. 3-9.
6. Петрова Е.С. Поддержание генетически модифицированных линий мышей: вклад в развитие биокolleкций в России. / Петрова Е.С. [и др.] // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – Т. 2. doi:10.29296/2618723X-2018-02-01
7. Смирнова К.В. Изучение влияния мутаций в гене *DISC1* у мышей линий L100P и Q31L на формирование поведения, подобного обсессивно-компульсивному / К.В. Смирнова [и др.] // РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА. – 2020. – Т. 106, № 3. – С. 384-394.
8. Старчина Ю.А. Постинсультная депрессия: научно обоснованные подходы к выбору терапии // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.– № 1.– 2012.– С.116-120.

9. Ткаченко А.А. Вероятностное обучение у генетически модифицированных линий мышей / А.А.Ткаченко [и др.] // Лабораторные животные для научных исследований.– 2018.– № 1.
10. Торопова К. А. Посттравматическое стрессовое расстройство: теоретические подходы и пути моделирования на животных / К. А. Торопова, О. И. Ивашкина, К. В. Анохин // Журнал высшей нервной деятельности. – 2021. – Т. 71, № 6. – С. 735-759
11. Физиология целенаправленного поведения млекопитающих. – М.: изд. МГУ, 1993. – 222 с
12. A roadmap to key pharmacologic principles in using antipsychotics // Prim Care Companion J Clin Psychiatry. – 2007. – V. 9, № 6. – P. 444-454.
13. Angoa-Pérez M. Marble burying and nestlet shredding as tests of repetitive, compulsive-like behaviors in mice / M. Angoa-Pérez (et al.) // J. Vis. Exp. – 2013. – V. 82, e50978.
14. Arguello P.A. Modeling madness in mice: one piece at a time / P.A. Arguello, J.A. Gogos // Neuron. – 2006. – V. 52, № 1. – P. 179-196
15. Ayhan Y. Differential effects of prenatal and postnatal expressions of mutant human DISC1 on neurobehavioral phenotypes in transgenic mice: evidence for neurodevelopmental origin of psychiatric disorders / Y. Ayhan [et al.] // Mol. Psychiatry. – 2011. – V. 16. – P. 293-306.
16. Baguley T.D. Synthesis of benzopentathiepin analogs and their evaluation as inhibitors of the phosphatase STEP / T.D. Baguley [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2015. – V. 25, № 5. – P. 1044-1046.
17. Barak S. Putative cognitive enhancers in preclinical models related to schizophrenia: the search for an elusive target / S. Barak, I. Weiner // Pharm BiochemBehav. – 2011. – V. 99. – P. 164-189.
18. Blackwood D.H. Schizophrenia and affective disorders--cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family / D.H. Blackwood [et al.] // American Journal of Human Genetics. – 2001. – V.69 (2). – P. 428-433.

19. Bord L. Primate disrupted-in-schizophrenia-1 (DISC1)^ high divergence of a gene for major mental illnesses in recent evolutionary history / L. Bord [et al.] // *Neuroscience Research*. – 2006. – V. 56. – P. 286-293.
20. Bradshaw N.J. DISC1, PDE4B, and NDE1 at the centrosome and synapse / N.J. Bradshaw [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2008. – V. 377. – P. 1091-96.
21. Bradshaw N.J. DISC1-binding proteins in neural development, signalling and schizophrenia / N.J. Bradshaw, D.J. Porteous // *Neuropharmacology*. – 2012. – V. 62. – P. 1230-1241.
22. Braff D.L. Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder / D.L. Braff [et al.] // *Schizophr Bull*. – 2007. – V. 33, № 1. – P. 21-32.
23. Braff D.L. Information processing and attention dysfunctions in schizophrenia // *Schizophrenia Bulletin*. – 1993. – V. 19. – P. 233-259.
24. Braff D.L. Sensorimotor gating and schizophrenia: human and animal model studies / D.L. Braff, M.A. Geyer, N.R. Swerdlow // *Arch Gen Psychiatry*. – 2001. – V. 47. – P. 181-188.
25. Brandon N.J. Disrupted in Schizophrenia and Nudel form a neurodevelopmentally regulated protein complex: implications for schizophrenia and other major neurological disorders / N.J. Brandon [et al.] // *Mol Cell Neurosci*. – 2004. – V. 25. – P. 42-55.
26. Brandon N.J. Linking neurodevelopmental and synaptic theories of mental illness through DISC1 / N.J. Brandon, A. Sawa // *Nat Rev Neurosci*. – 2011. – V. 12. – P. 707-722.
27. Brown A.S. Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiological and translational studies / A.S. Brown, E.J. Derkits // *Am J Psychiatry*. – 2010. – V. 167. – P. 261–280.
28. Brown J.A. Inhibition of parvalbumin-expressing interneurons results in complex behavioral changes / J.A. Brown [et al.] // *Mol. Psychiatry*. – 2015. – V. 20, № 12. – P. 1499-1507.
29. Buckley P.F. Psychiatric comorbidities and schizophrenia / P.F. Buckley [et al.] // *Schizophr Bull*. – 2009. – V. 35. – P. 383-402.

30. Buka S.K. Association of prenatal and perinatal complications with subsequent bipolar disorder and schizophrenia / S.K. Buka, A.P. Fan // *Schizophr Res.* – 1999. – V. 39. – P. 113-119.
31. Camargo L.M. Disrupted in Schizophrenia 1 Interactome: evidence for the close connectivity of risk genes and a potential synaptic basis for schizophrenia / L.M. Camargo [et al.] // *Mol Psychiatry.* – 2007. – V. 12. – P. 74-86.
32. Carty N.C. The tyrosine phosphatase STEP: implications in schizophrenia and the molecular mechanism underlying antipsychotic medications / N.C. Carty [et al.] // *Transl Psychiatry.* – 2012. – V. 2, №7, e137. doi: 10.1038/tp.2012.63
33. Castellanos F.X. Sensorimotor gaiting in boys with Tourette's syndrome and ADHD: preliminary results / F.X. Castellanos [et al.] // *Biol Psychiatry.* – 1996. – V. 39. – P. 33-41.
34. Chubb J.E. The DISC locus in psychiatric illness / J.E. Chubb [et al.] // *Mol Psychiatry.* – 2008. – V.13, № 1. – P. 36-64.
35. Clapcote S.J. Behavioral phenotypes of DISC1 missense mutations in mice / S.J. Clapcote [et al.] // *Neuron.* – 2007. – V.54, №3. – P.387-402.
36. Clarke M.C. Evidence for an interaction between familial liability and prenatal exposure to infection in the causation of schizophrenia / M.C. Clarke [et al.] // *Am J Psychiatry.* – 2009. – V.166. – P. 1025–1030.
37. Clark J.W. Sex differences in mouse models of fear inhibition: Fear extinction, safety learning, and fear-safety discrimination / J.W. Clark [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2019. – V. 176, №21. – P. 4149-4158.
38. Clifton N.E. The effect of ketamine on the consolidation and extinction of contextual fear memory / N.E. Clifton, K.L. Thomas, J. Hall // *J.Psychopharmacol.* – 2018. – V. 32, №2. – P. 156-162.
39. Colom-Lapetina J. Behavioral diversity across classic rodent models is sex-dependent / J. Colom-Lapetina [et al.] // *Front.Behav.Neurosci.* – 2019. – V.13. – A.45.
40. Crider A. Perseveration in schizophrenia // *Schizophr Bull.* – 1997. – V. 23. – P. 63-74.
41. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a

genome-wide analysis. / Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium [et al.] // *Lancet*. – 2013. – V.381. – P.1371-1379.

42. Cui L. Disrupted-in-schizophrenia 1 (DISC1) L100P mutation alters synaptic transmission and plasticity in the hippocampus and causes recognition memory deficits. / L. Cui [et al.] // *Molecular Brain*. – 2016. – V. 9, № 1 doi:10.1186/s13041-016-0270-y

43. Cuijpers P. Preventing the onset of depressive disorders: A meta-analytic review of psychological interventions / P. Cuijpers [et al.] // *American Journal of Psychiatry*. – 2008. – V.165. – P. 1271-1280.

44. Dachtler J. Missense mutation in DISC1 C-terminal coiled-coil has GSK3 β signaling and sex-dependent behavioral effects in mice / J. Dachtler [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – V.6, 18748.

45. Day H.L.L. The neurobiological basis of sex differences in learned fear and its inhibition / H.L.L. Day, C.W. Stevenson // *Eur J Neurosci*. – 2020. – V.52, №1. – P. 2466-2486.

46. Day H.L.L. Sex differences in auditory fear discrimination are associated with altered medial prefrontal cortex function / H.L.L. Day [et al.] // *SciRep*. – 2020. – V.10, №1, 6300.

47. Derntl B. How specific are emotional deficits? A comparison of empathic abilities in schizophrenia, bipolar and depressed patients / B. Derntl [et al.] // *Schizophr. Res.* – 2012. – V.142. – P. 58–64.

48. Desbonnet L. Mice mutant for genes associated with schizophrenia: common phenotype or distinct endophenotypes? / L. Desbonnet, J.L. Waddington, C.M.P. O'Tuathaigh // *Behav Brain Res*. – 2009. – V. 204. – P. 258-273.

49. Elvevag B. Cognitive impairment in schizophrenia is the core of the disorder / B. Elvevag, T.E. Goldberg // *Crit Rev Neurobiol*. – 2000. – V. 14. – P. 63-72.

50. Fitzpatrick C.J., Lombroso P.J. The Role of Striatal-Enriched Protein Tyrosine Phosphatase (STEP) in Cognition // *Frontiers in neuroanatomy*. – 2011. – V. 5. – A. 47. doi: 10.3389/fnana.2011.00047

51. Gershon E.S. Clinical methods in psychiatric genetics. I. Robustness of genetic marker investigative strategies / E.S. Gershon, L.R. Goldin // *Acta Psychiatr Scand*. – 1986. – V. 74, №2. – P. 113-118.

52. Goebel-Goody S.M. Therapeutic implications for striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) in neuropsychiatric disorders / S.M. Goebel-Goody [et al.] // *Pharmacol Rev.* – 2012. – V. 64, № 1. – P. 65-87.
53. Granza A.E. Social Interaction Is Less Rewarding in Adult Female than in Male Mice / A.E. Granza (et al.) // *Brain Sci.* – 2023. – V. 13, 1445.
54. Gray J.A. Abolition of latent inhibition by a single 5 mg/kg dose of d-amphetamine in man / J.A Gray [et al.] // *Psychopharmacology.* – 1992. – V. 107. – P. 425-430.
55. Gray N.S. Abolition of latent inhibition in acute, but not chronic, schizophrenics / N.S. Gray, D.R. Hemsley, J.A. Gray // *Neurol. Psychiatry Brain Res.* – 1992. – V. 1. – P. 83-89.
56. Green M.F. Cognitive remediation in schizophrenia: is it time yet? // *Am. J. Psychiatry.* – 1993. – V. 150, № 2. – P. 178-187.
57. Greiner E.M. Sex differences in fear regulation and reward-seeking behaviors in a fear-safety-reward discrimination task / E.M. Greiner [et al.] // *Behav. Brain Res.* – 2019. – V. 368, 111903.
58. Gruene T.M. Sexually divergent expression of active and passive conditioned fear responses in rats/ T.M. Gruene [et al.] // *Elife.* – 2015. – V. 4, pii: e11352.
59. Häfner H. ABC schizophrenia study: an overview of results since 1996 / H. Häfner, K. Maurer, W. an der Heiden // *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* – 2013. – V.48. – P.1021-1031.
60. Häfner H. Depression, negative symptoms, social stagnation and social decline in the early course of schizophrenia / H. Häfner [et al.] // *ActaPsychiatr Scand.* – 1999. – V. 100. – P.105-118.
61. Häfner H. Schizophrenia and depression: challenging the paradigm of two separate diseases – a controlled study of schizophrenia, depression and healthy controls / H. Häfner [et al.] // *Schizophr Res.* – 2005. – V.77. – P.11-24.
62. Hasler G. DISCovering endophenotypes for major depression / G. Hasler [et al.] // *Neuropsychopharmacology.* – 2004. – V. 29. – P. 1765-1781.
63. Hasler G. DISCovering imaging endophenotypes for major depression // G. Hasler, G. Northoff / *Molecular Psychiatry.* – 2011. – V. 16. – P. 604-619.

64. Heinrichs R.W. Neurocognitive subtypes of chronic schizophrenia / R.W. Heinrichs, A.G. Awad // *Schizophr. Res.* – 1993. – V. 9, № 1. – P. 49-58.
65. Henry S.A. Severe disruption of prepulse inhibition (PPI) in mice lacking mGluR5 / S.A. Henry [et al.] // *Soc. Neurosci. Abstr.* – 1999. – V. 25. – P. 405-412.
66. Hikida T. Dominant-negative DISC1 transgenic mice display schizophrenia-associated phenotypes detected by measures translatable to humans / T. Hikida [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2007. – V. 104, № 36. – P. 14501-14506.
67. Jaaro-Peled H. Neurodevelopmental mechanisms of schizophrenia: understanding disturbed postnatal brain maturation through neuregulin-1-ERBB4 and DISC1 / H. Jaaro-Peled [et al.] // *Trends Neurosci.* – 2009. – V. 32. – P. 485-495.
68. Jacobs P. A. Studies on a family with three cytogenetic markers / Jacobs P. A. [et al.] // *Ann Hum Genet (Lond).* - 1970. - V. 33. - P. 325–336
69. James R. Disrupted in Schizophrenia 1 (DISC1) is a multicompartimentalized protein that 167 predominantly localizes to mitochondria / R. James [et al.] // *Mol. Cell. Neurosci.* – 2004. – V. 26. – № 1. – P. 112-122.
70. Jones H.B. Evidence and implications for multiplicative interactions among loci predisposing to human common disease / H.B. Jones, M. Faham / *Hum. Hered.* – 2005. – V. 59, № 3. – P. 176-184.
71. Kamiya A. A 169 schizophrenia-associated mutation of DISC1 perturbs cerebral cortex development / Kamiya A. [et al.] // *Nat. Cell Biol.* – 2005. – V. 7, № 12. – P. 1167-1178.
72. Karasawa T. Disruption of striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) function in neuropsychiatric disorders / T. Karasawa, P.J. Lombroso // *Neurosci Res.* – 2014. – V. 89. – P. 1-9. doi: 10.1016/j.neures.2014.08.018.
73. Kaidanovich-Beilin O. Assessment of social interaction behaviors / O. Kaidanovich-Beilin [et al.] // *JoVE* – 2011. – V. 48, e2473.
74. Kalueff A. Analyzing grooming microstructure in neurobehavioral experiments / A. Kalueff [et al.] // *Nat. Protoc.* – 2007. – V. 2. – P. 2538-2544.
75. Keiser A.A. Sex differences in context fear generalization and recruitment of hippocampus and amygdala during retrieval / A.A. Keiser [et al.] // *Neuropsychopharmacology.* – 2017. – V.42, №2. – P.397-407.

76. Kelley J.B. Impairments in fear conditioning in mice lacking the nNOS gene / J.B. Kelley [et al.] // *Learn.Mem.* – 2009. – V. 16, №6. – P.371-378.
77. Kim S.Y. Striatal-enriched protein tyrosine phosphatase regulates dopaminergic neuronal development via extracellular signal-regulated kinase signaling / S.Y. Kim [et al.] // *Exp Neurol.* – 2008. – V. 214, №1. – P. 69-77.
78. Kirkpatrick B. DISC1 immunoreactivity at the light and ultrastructural level in the human neocortex / B. Kirkpatrick [et al.] // *J Comp Neurol.* – 2006. – V.497, №3. – P.436-50.
79. Kulikov A.V. A new synthetic varacin analogue, 8-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,5-benzopentathiepin-6-amine hydrochloride (TC-2153), decreased hereditary catalepsy and increased the BDNF gene expression in the hippocampus in mice / A.V. Kulikov [et al.] // *Psychopharmacology.* – 2012. – V. 221, № 3. – P. 468-478.
80. Kulikova E.A. Inhibitor of Striatal-Enriched Protein Tyrosine Phosphatase, 8-(Trifluoromethyl)-1,2,3,4,5-Benzopentathiepin-6-Amine hydrochloride (TC-2153), Produces Antidepressant-Like Effect and Decreases Functional Activity and Protein Level of 5-HT_{2A} Receptor in the Brain / E.A. Kulikova [et al.] // *Neuroscience.* – 2018. – V. 1, № 394. – P. 220-231.
81. Lacasse J.R. Serotonin and depression: a disconnect between the advertisements and the scientific literature / J.R. Lacasse, J. Leo // *PLoS Med.* – 2005. – V. 2, № 12. doi:10.1371/journal.pmed.0020392.
82. Lang U.E. Molecular Mechanisms of Depression: Perspectives on New Treatment Strategies / U.E. Lang, S. Borgwardt // *Cell PhysiolBiochem.* – 2013. – V. 31. – P. 761-777.
83. Leucht S. Second-generation versus first-generation antipsychotic drugs for schizophrenia: a meta-analysis / S. Leucht [et al.] // *Lancet.*–2009.–V.373, № 9657.– P.31-41.
84. Lewis D.A., Levitt P. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment / D.A. Lewis, P. Levitt // *Annu. Rev. Neurosci.* – 2002. – V. 25. – P. 409-432.
85. Li W. Specific developmental disruption of disrupted-in-schizophrenia-1 function results in schizophrenia-related phenotypes in mice / W. Li [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – V. 104. – P. 18280-18285.

86. Lipina T.V. Disrupted-In-Schizophrenia-1 (DISC1) interactome and mental disorders: Impact of mouse models / T.V. Lipina, J.C. Roder // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2014. – V. 45. – P. 271-294.
87. Lipina T.V. Disrupted-In-Schizophrenia-1 Gln31Leu polymorphism results in Social Anhedonia associated with Monoaminergic imbalance and reduction of CREB and β -arrestin-1,2 in the Nucleus Accumbens in a mouse model of depression / T.V. Lipina [et al.] // *Neuropsychopharmacology.* – 2013. – V. 38, № 3. – P. 423-436.
88. Lipina T.V. Dual inhibitor of PDE7 and GSK-3-VP1.15 acts as antipsychotic and cognitive enhancer in C57BL/6J mice / T.V. Lipina [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2013. – V. 64. – P. 205-214.
89. Lipina T.V. Genetic and pharmacological evidence for schizophrenia related DISC1 interaction with GSK-3 / T.V. Lipina [et al.] // *Synapse.* – 2011. – V.65. – P.234-248.
90. Lipina T.V. Enhanced dopamine function in DISC1-L100P mutant mice: implications for schizophrenia / T.V. Lipina [et al.] // *Genes Brain Behav.* – 2010. – V. 9, № 7. – P. 777-789.
91. Lipina T.V. Maternal immune activation during gestation interacts with Disc1 point mutation to exacerbate schizophrenia-related behaviors in mice / T.V. Lipina [et al.] // *J. Neurosci.* – 2013. – V. 33, № 18. – P. 7654-7666.
92. Lipina T.V. Prophylactic valproic acid treatment prevents schizophrenia-related behaviour in DISC1-L100P mutant mice / T.V. Lipina [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – V. 7, № 12. doi:10.1371/journal.pone.0051562.
93. Lipina T.V. Synergistic interactions between PDE4B and GSK-3: DISC1 mutant mice / T.V. Lipina [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2012. – V.62, № 3. – P. 1252-1262.
94. Lipska B.K. Expression of DISC1 binding partners is reduced in schizophrenia and associated with DISC1 SNPs / B.K. Lipska [et al.] // *Hum. Mol. Genet.*–2006.–V.15.–P.1245-58.
95. Lipska B.K. To model a psychiatric disorder in animals: Schizophrenia as a reality test / B.K. Lipska, D.R. Weinberger // *Neuropsychopharmacology.* – 2000. – V. 23. – P. 223-239.

96. Ma L. Cloning and characterization of DISC1, the mouse ortholog of DISC1 (Disrupted-in-Schizophrenia 1) / L. Ma [et al.] // *Genomics*. – 2002. – V. 80, № 6. – P. 662-672.
97. Maher B.J. Disrupted-in-schizophrenia (DISC1) functions presynaptically at glutamatergic synapses / B.J. Maher, J.J. LoTurco // *PLoS One*. – 2012. – V. 7.
98. Mäki P. Schizophrenia in the offspring of antenatally depressed mothers in the Northern Finland 1966 birth cohort: relationship to family history of psychosis / P. Mäki [et al.] // *Am J Psychiatry*. – 2010. – V.167. – P. 70-77.
99. Marek R. Excitatory connections between the prelimbic and infralimbic medial prefrontal cortex show a role for the prelimbic cortex in fear extinction / R. Marek [et al.] // *Nat Neurosci*. – 2018. – V. 21, № 5. – P. 654-658.
100. McCutcheon R.A., Pillinger T., Mizuno Y., Montgomery A., Pandian H., Vano L., Marques T.R., Howe O.D. The efficacy and heterogeneity of antipsychotic response in schizophrenia: A meta-analysis // *Mol. Psychiatry*. – 2019. – V. 26, № 4. – P. 1310-1320.
101. Millar J.K. Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia / J.K. Millar [et al.] // *Hum. Mol. Genet*. – 2000. – V. 9. – P. 1415-1423.
102. Millar J.K. Genomic structure and localisation within a linkage hotspot of Disrupted In Schizophrenia 1, a gene disrupted by a translocation segregating with schizophrenia / J.K. Millar [et al.] // *Mol. Psychiatry*. – 2001. – V. 6. – P. 173-178.
103. DISC1 and DISC2: Discovering and Dissecting Molecular Mechanisms Underlying Psychiatric Illness
104. Millar J.K. DISC1 and DISC2: Discovering and Dissecting Molecular Mechanisms Underlying Psychiatric Illness / J.K. Millar [et al.] // *Mol. Psychiatry*. – 2004. – V. 36, № 5. – P. 367-378.
105. Miyoshi K. Disrupted-In-Schizophrenia 1, a candidate gene for schizophrenia, participates in neurite outgrowth / K. Miyoshi [et al.] // *Mol. Psychiatry*. – 2003. – V.8. – P.685-694.
106. Muñoz R.F. Major depression can be prevented / R.F. Muñoz, W.R. Beardslee, Y. Leykin / *Am Psychol*. – 2012. – V. 67, № 4. – P. 285-295.

107. Nakata K. DISC1 splice variants are upregulated in schizophrenia and associated with risk polymorphisms / K. Nakata [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2009. – V. 106, № 37. – P. 15873-15878.
108. Nestler E.J. Animal models of neuropsychiatric disorders / E.J. Nestler, S.E. Hyman // *Nat Neurosci.* – 2010. – V. 13. – P. 1161–1169.
109. Niwa M. Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits / M. Niwa [et al.] // *Neuron.* – 2010. – V. 65. – P. 480-489.
110. O’Tuathaigh C.M.P. Genetic models of schizophrenia and related psychotic disorders: progress and pitfalls across the methodological “minefield” / C.M.P. O’Tuathaigh, P.M. Moran, J.L. Waddington // *Cell Tissue Res.*–2013.–V.354.–P.247-257.
111. Ogawa F. A functional link between Disrupted-In-Schizophrenia-1 and the eukaryotic translation initiation factor 3 / F. Ogawa, M. Kasai, T. Akiyama // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2005. – V. 338, № 2. – P. 771-776.
112. Olf M. The role of oxytocin in social bonding, stress regulation and mental health: an update on the moderating effects of context and interindividual differences / M. Olf [et al.] // *Psychoneuroendocrinology.* – 2013. – V. 38. – P. 1883-1894.
113. Ozeki Y. Disrupted-in-Schizophrenia 1 (DISC-1): mutant truncation prevents binding to NudE-like (NUDEL) and inhibits neurite outgrowth / Y. Ozeki [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* – 2003. – V. 100, № 1. – P. 289-294.
114. Park K. Systemic Cellular Activation Mapping of an Extinction-Impaired Animal Model / K. Park, C. Chung // *Front Cell Neurosci.* – 2019. – V. 13. – A. 99.
115. Paxinos, G. Paxinos and Franklin’s the mouse brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, K.B.J. Franklin. — 4th ed. — Amsterdam: Boston: Elsevier/Academic Press, 2013
116. Pletnikov M.V. Inducible expression of mutant human DISC1 in mice is associated with brain and behavioral abnormalities reminiscent of schizophrenia / M.V. Pletnikov [et al.] // *Mol Psychiatry.* – 2008. – V.13, № 2. – P. 173-186.
117. Potkin S.G. The neurobiology of treatment-resistant schizophrenia: Paths to antipsychotic resistance and a roadmap for future research / S.G. Potkin [et al.] // *NPJ Schizophr.* – 2020. – V. 6, № 1. doi: 10.1038/s41537-019-0090-z

118. Powell C.M. Schizophrenia-Relevant Behavioral Testing in Rodent Models: A Uniquely Human Disorder? / C.M. Powell, T. Miyakawa // *Biol Psychiatry*. – 2006. – V.65, № 7. – P. 1198–1207.
119. Powell S.B. Atypical antipsychotics clozapine and quetiapine attenuate prepulse inhibition deficits in dopamine transporter knockout mice / S.B. Powell [et al.] // *BehavPharmacol*. – 2008. – V. 19. – P. 562-65.
120. Rabe-Jabłońska J. Is schizophrenia a neurodegenerative or neurodevelopmental disease? // *Psychiatr. Psychol. Klin*. – 2005. – V. 5, № 1. – P. 117-125.
121. Ramsey A.J. Impaired NMDA receptor transmission alters striatal synapses and DISC1 protein in an age-dependent manner / A.J. Ramsey [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2011. – V. 108. – P. 5795-5800.
122. Rasle C. Clinical features of latent inhibition in schizophrenia / C. Rasle [et al.] // *Schizophr Res*. – 2001. – V. 51. – P. 149-161.
123. Ribeiro A.M. Sex differences in aversive memory in rats: possible role of extinction and reactive emotional factors / A.M. Ribeiro [et al.] // *Brain Cogn*. – 2010. – V. 74, № 2. – P. 145-151.
124. Rodgers R.J. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology / R.J. Rodgers, J.C. Cole // In: Cooper SJ, Hendrie CA (eds) *Ethology and psychopharmacology*. Wiley, Chichester. – 1994. – P. 9–44.
125. Ross C.A. Neurobiology of schizophrenia / C.A. Ross [et al.] // *Neuron*. – 2006. – V. 52. – P. 139-153.
126. Ruddraraju K. V. Covalent inhibition of protein tyrosine phosphatases / K. V. Ruddraraju, Z-Y Zhang // *Mol. Biosyst*. – 2018. – V. 13, № 7. – P. 1257-1279.
127. Sandler I.N. Six-year follow-up of a preventive intervention for parentally-bereaved youth: A randomized controlled trial. / I.N. Sandler [et al.] // *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*. – 2010. – V. 164. – P. 907-915.
128. Schmidt H.D. Future antidepressant targets: neurotrophic factors and related signaling cascades drug / H.D. Schmidt, M. Banasr, R.S. Duman // *Discov Today TherStrateg*. – 2008. – V.5. – № 3. – P. 151-156.
129. Schothorst P.F. Characteristics of early psychosis / P.F. Schothorst, C. Emck, H. van Engeland // *Compr Psychiatry*. – 2006. – V. 47. – P. 438-442.

130. Schurov I.L. Expression of disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) protein in the adult and developing mouse brain indicates its role in neurodevelopment / I.L. Schurov [et al.] // *Mol Psychiatry*. – 2004. – V. 9, № 12. – P. 1100-1110.
131. Seibenhener M. L. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice / M. L. Seibenhener, M. C. Wooten // *JoVE*. – 2015. – V. 96), e52434
132. Siris S.G. Postpsychotic depression and negative symptoms: an investigation of syndromal overlap / S.G. Siris [et al.] // *Am J Psychiatry*. – 1988. – V. 145. – P. 1532–1537.
133. Soares D.C. DISC1: Structure, Function, and Therapeutic Potential for Major Mental Illness / D.C. Soares [et al.] // *ACS ChemNeurosci*. – 2011. – V. 2, №. 11. – P. 609-632.
134. Sönmez N. Depressive symptoms in first episode psychosis: a one-year follow-up study / N. Sönmez [et al.] // *BMC Psychiatry*. – 2013. – V. 13, №. 106.
135. Su P. A dopamine D2 receptor-DISC1 protein complex may contribute to antipsychotic-like effects / P. Su [et al.] // *Neuron*. – 2014. – V. 84, №.6. – P. 1302-1316.
136. Swerdlow N.R. Assessing the validity of an animal model of deficient sensorimotor gating in schizophrenia patients / N.R. Swerdlow [et al.] // *Arch Gen Psychiatry*. – 1994. – V. 51. – P. 139-154.
137. Taylor M.S. Evolutionary constraints on the Disrupted in Schizophrenia locus / M.S. Taylor [et al.] // *Genomics*. – 2003. – V. 81, № 1. – P. 67-77.
138. Thompson B.L. Now you see it, now you don't—closing in on allostasis and developmental basis of psychiatric disorders / B.L. Thompson, P. Levitt // *Neuron*. – 2010. – V.65. – P. 437-439.
139. Thomson P.A. DISC1 genetics, biology and psychiatric illness / P.A. Thomson [et al.] // *Front. Biol*. – 2013. – V. 8.
140. Tseng H.H. Facial and prosodic emotion recognition deficits associate with specific clusters of psychotic symptoms in schizophrenia / H.H. Tseng [et al.] // *PLoS ONE* – 2013. – V.8. doi:10.1371/journal.pone.0066571.
141. Uliana D.L. Fear extinction disruption in a developmental rodent model of schizophrenia correlates with an impairment in basolateral amygdala-medial prefrontal

cortex plasticity / D.L.Uliana, L.B.M.Resstel, A.A. Grace // *Neuropsychopharmacology*. – 2018. – V. 43, №12. – P. 2459-2467.

142. van Zoonen K. Preventing the onset of major depressive disorder: a meta-analytic review of psychological interventions / K. van Zoonen [et al.] // *Int J Epidemiol*. – 2014. – V. 43, № 2. – P. 318-329.

143. Velasco E.R. Sex differences in fear extinction / E.R.Velasco [et al.] // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2019. – V.103. – P. 81-108.

144. Vogel, H.G. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. 3rd Edition. / Berlin: Springer, 2008. – 1800 p.

145. Walsh J. Disruption of exploratory and habituation behavior in mice with mutation of DISC1: an ethologically based analysis / J. Walsh [et al.] // *J. Neurosci. Res.* – 2012. – V. 90, № 7. – P.1445-1453.

146. Wang S-M. Second Generation Antipsychotics in the Treatment of Major Depressive Disorder: An Update / S-M. Wang [et al.] // *Chonnam Med J.* – 2016. – V.52, № 3. – P.159-172.

147. Weber E.M. Aggression in Group-Housed Male Mice: A Systematic Review/ E.M. Weber [et al.] // *Animals (Basel)* . – 2022. – V. 13, № 1, 143.

148. Weiner I. Abolition of the expression but not the acquisition of latent inhibition by chronic amphetamine in rats / I. Weiner, R.E. Lubow, J. Feldon // *Psychopharmacology*. – 1984. – V. 83. – P. 194-199.

149. Weiner I. The “two-headed” latent inhibition model of schizophrenia: modeling positive and negative symptoms and their treatment / I. Weiner (et al.) // *Psychopharmacology* – 2003. – V. 169. – P. 257–297.

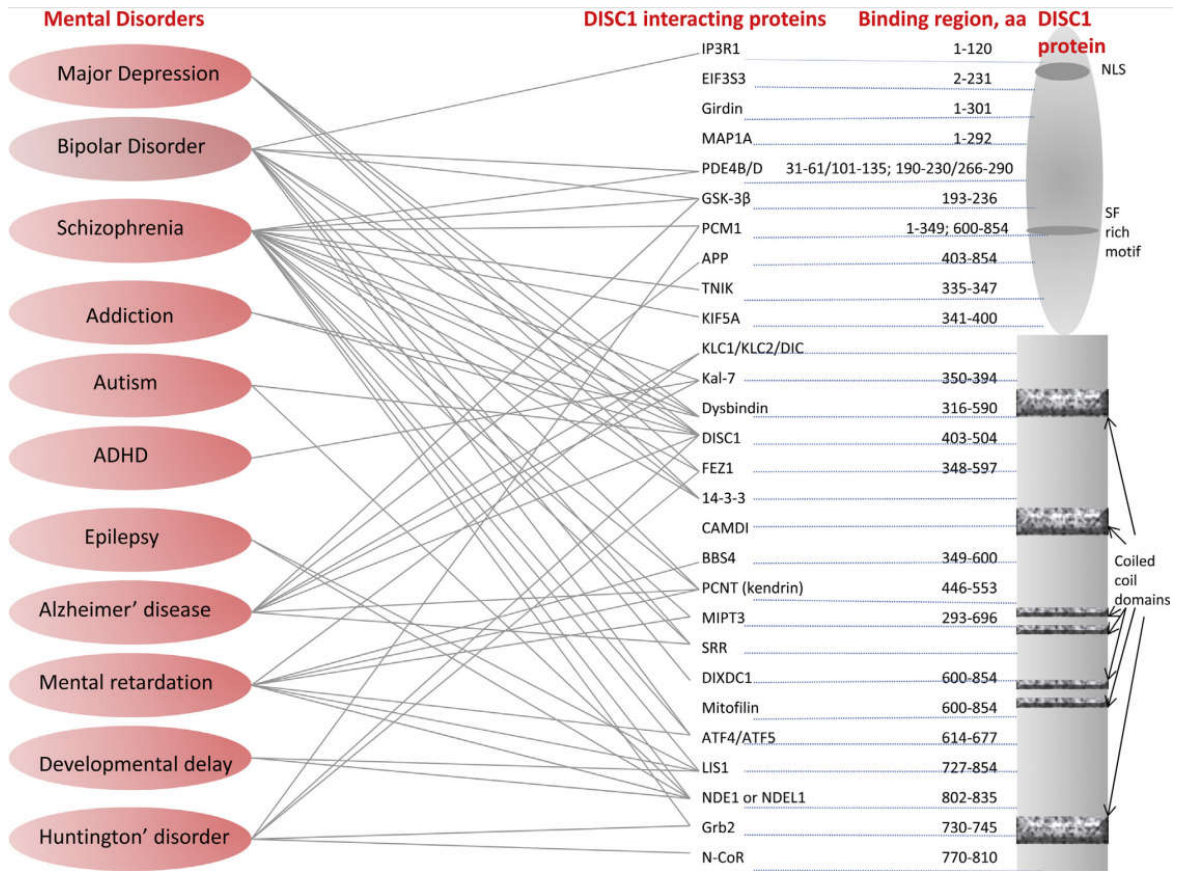
150. Weiner I. Disruption of latent inhibition by acute administration of low doses of amphetamine/ I. Weiner, R.E. Lubow, J. Feldon // *Pharm BiochemBehav.* – 1988. – V.30 – P.871-878.

151. Weiner I. The latent inhibition model of schizophrenia: further validation using the atypical neuroleptic, clozapine./ I. Weiner [et al.] // *Biol. Psych.* – 1996. – V. 40. – P. 834-843.

152. Willner P. The validity of animal models of depression // *Psychopharmacology*. – 1984. – V. 83, № 1. – P. 1-16. doi:10.1007/BF00427414

153. Wray N.R. Narrowing the boundaries of the genetic architecture of schizophrenia / N.R. Wray, P.M. Visscher // *Schizophr. Bull.* – 2010. – V. 36.
154. Xu J. Inhibition of the tyrosine phosphatase STEP61 restores BDNF expression and reverses motor and cognitive deficits in phencyclidine-treated mice / J. Xu [et al.] // *Cell Mol Life Sci.* – 2016 – V. 73, № 7. – P. 1503-1514.
155. Xu J. Inhibition of STEP61 ameliorates deficits in mouse and hiPSC-based schizophrenia models / J. Xu [et al.] // *Mol Psychiatry.* – 2018. – V.3, № 2. – P. 271-281.
156. Yankelevitch-Yahav R. The forced swim test as a model of depressive-like behavior / R. Yankelevitch-Yahav [et al.] // *J Vis Exp.* – 2015. – V. 2, № 97, 52587
157. Yung A.R. Psychosis prediction: 12-month follow up of a high-risk (“prodromal”) group / A.R. Yung [et al.] // *Schizophr Res.* – 2003. – V. 60. – P. 21-32.
158. Zaqout S. Golgi-Cox Staining Step by Step / S. Zaqout, A.M. Kaindl // *Front. Neuroanat.* – 2016. – V. 10, № 38.
159. Zeng H. Forebrain-specific calcineurin knockout selectively impairs bidirectional synaptic plasticity and working/episodic-like memory / H. Zeng [et al.] // *Cell.* – 2001. – V. 107. – P. 617-629.

Приложение 1. Белки, взаимодействующие с DISC1, и связанные с ними психические расстройства человека



(Lipina & Roder, 2014).