



Активность ферментов, разрушающих внеклеточные нуклеотиды, в тканях крыс с вальпроатной моделью аутизма

Д.В. Иванова^{1*}, Р.А. Хабиров², А.У. Зиганшин¹

¹Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

Реферат

Актуальность. Эктонуклеотидазы гидролизуют внеклеточные нуклеотиды и таким образом могут контролировать влияние этих веществ на пуриnergические P1- и P2-рецепторы.

Цель. Оценить методом высокоэффективной жидкостной хроматографии активность эктонуклеотидаз в гладкомышечных тканях внутренних органов 9-месячных крыс с вальпроатной моделью аутизма.

Материал и методы исследования. Аутизм моделировали у крыс аутбредной линии Wistar введением беременным самкам на 12–13-й день беременности вальпроевой кислоты (500 мг/кг) однократно подкожно. Родившееся потомство использовали в исследовании по достижении крысами 270±8 дней. Животных гильотинировали под лёгким эфирным наркозом, выделяли мочевой пузырь, матку, семявыносящие протоки, двенадцатиперстную кишку и готовили образцы гладкомышечных тканей. Общую эктонуклеотидазную активность определяли путём инкубирования образцов тканей с аденозинтрифосфатом (субстрат реакции) в течение 10 мин с дальнейшей оценкой содержания субстрата и продуктов реакции (аденозиндифосфата, аденозинмонофосфата) в инкубате методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Математическую и статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и IBM SPSS Statistics 26.0. Сравнение групп осуществляли с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. У крыс с вальпроатной моделью аутизма активность эктонуклеотидаз гладкомышечных тканей семявыносящего протока (609,5±153,9) и матки (232,7±2) была достоверно ниже контрольных значений (2114,6±524,3, $p=0,040$; 539,6±63,5, $p=0,010$ соответственно). В двенадцатиперстной кишке (1808,4±184,5) и мочевом пузыре (1021,3±280,7) мы не обнаружили достоверной разницы в сравнении с контрольными значениями (2115,0±393,3, $p=0,712$; 2302,3±615,8, $p=0,274$ соответственно). Это исследование позволяет оценить возможный вклад пуриnergической передачи в ранее найденные нами изменения в сократительной активности гладкомышечных тканей крыс с вальпроатной моделью аутизма.

Вывод. У крыс 9 мес с моделью аутизма снижена активность эктонуклеотидаз в гладкомышечных тканях репродуктивных органов; в тканях кишечника и мочевого пузыря таких изменений не обнаружено.

Ключевые слова: аутизм, вальпроевая модель, крысы, эктонуклеотидазы, пуриnergорецепторы.

Для цитирования: Иванова Д.В., Хабиров Р.А., Зиганшин А.У. Активность ферментов, разрушающих внеклеточные нуклеотиды, в тканях крыс с вальпроатной моделью аутизма. *Казанский мед. ж.* 2024;105(1):84–89. DOI: 10.17816/KMJ611074.

*Для переписки: ivanovadv96@yandex.ru
Поступила 20.10.2023; принята в печать 03.11.2023;
опубликована 28.12.2023.
© Эко-Вектор, 2023. CC BY-NC-SA 4.0.

*For correspondence: ivanovadv96@yandex.ru
Submitted 20.10.2023; accepted 03.11.2023;
published 28.12.2023.
© Eco-Vector, 2023. CC BY-NC-SA 4.0.

ORIGINAL STUDY | DOI: 10.17816/KMJ611074

Activity of enzymes destroying extracellular nucleotides in the tissues of rats with the valproate model of autismD.V. Ivanova^{1*}, R.A. Khabirov², A.U. Ziganshin¹¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;²Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia**Abstract****Background.** Ectonucleotidases hydrolyze extracellular nucleotides and thus can control the effect of these substances on purinergic P1 and P2 receptors.**Aim.** To evaluate the activity of ectonucleotidases in the smooth muscle tissues of internal organs of 9-month-old rats with the valproate model of autism using high-performance liquid chromatography.**Material and methods.** Autism was modeled in outbred Wistar rats by administering valproic acid (500 mg/kg) subcutaneously to pregnant females on days 12–13 of pregnancy. The born offspring were used in the study when the rats reached 270±8 days. Animals were guillotined under light ether anesthesia, the bladder, uterus, vas deferens, and duodenum were isolated, and smooth muscle tissue samples were prepared. Total ectonucleotidase activity was determined by incubating tissue samples with adenosine triphosphate (reaction substrate) for 10 minutes with further assessment of the content of the substrate and reaction products (adenosine diphosphate, adenosine monophosphate) in the incubate using high-performance liquid chromatography. Mathematical and statistical processing of the results was carried out using Microsoft Excel and IBM SPSS Statistics 26.0 software. Group comparisons were made using the nonparametric Mann–Whitney U test. Differences were considered significant at $p < 0.05$.**Results.** In rats with the valproate model of autism, the activity of ectonucleotidases in the smooth muscle tissues of the vas deferens (609.5 ± 153.9) and uterus (232.7 ± 2) was significantly lower than control values (2114.6 ± 524.3 , $p = 0.040$; 539.6 ± 63.5 , $p = 0.010$, respectively). In the duodenum (1808.4 ± 184.5) and bladder (1021.3 ± 280.7) we did not find a significant difference compared to the control values (2115.0 ± 393.3 , $p = 0.712$; 2302.3 ± 615.8 , $p = 0.274$, respectively). This study allows us to evaluate the possible contribution of purinergic transmission to the changes we found earlier in the contractile activity of smooth muscle tissue in rats with the valproate model of autism.**Conclusion.** In 9-month-old rats with a model of autism, the activity of ectonucleotidases in the smooth muscle tissues of the reproductive organs is reduced; no such changes were found in the tissues of the intestines and bladder.**Keywords:** autism, valproic model, rats, ectonucleotidases, purinoceptors.**For citation:** Ivanova DV, Khabirov RA, Ziganshin AU. Activity of enzymes destroying extracellular nucleotides in the tissues of rats with the valproate model of autism. *Kazan Medical Journal*. 2024;105(1):84–89. DOI: 10.17816/KMJ611074.**Актуальность**

Эктонуклеотидазы — группа ферментов, которые расположены на поверхности клеток и гидролизуют внеклеточные нуклеотиды до нуклеозидов. Это важный механизм регулирования концентрации этих нуклеотидов, которые могут оказывать разнообразное биологическое воздействие, в частности существенно изменять влияние эндогенных лигандов на пуринергические P2-рецепторы и аденозиновые рецепторы [1].

Существует несколько типов эктонуклеотидаз: экто-нуклеозид-5'-трифосфат-дифосфогидролазы (NTPДазы, также известные, как CD39-семейство экто-апираз); экто-нуклеотид-пирофосфатазы/фосфодиэстеразы (NPP); гликозилфосфатидилинозитол (GPI)-связанная экто-5'-нуклеотидаза (экто-5'-НТ, также известная как CD73); GPI-связанные щелочные фосфатазы (AP). Эти ферменты играют важную роль в регулировании экстрацеллюлярных нуклеотидов и P2-рецепторной сигнализации [2].

CD39 и CD73 — это две связанные между собой эктонуклеотидазы, которые играют важную роль в регуляции иммунной системы и метаболизме нуклеотидов. CD39 [также известный, как экто-нуклеозид-5'-трифосфат-дифосфогидролаза-1 (NTPДазы-1)] служит мембранным гликопротеином, который преобразует аденозинтрифосфат (АТФ) и другие нуклеотиды в аденозиндифосфат (АДФ) и аденозинмонофосфат (АМФ), а затем в соответствующие нуклеозиды.

Подвергая гидролизу АТФ и другие нуклеотиды внеклеточного пространства до АДФ и АМФ, CD39 приводит к снижению уровня АТФ, который является мощным стимулятором тромбообразования и воспаления. CD73 (также известный как экто-5'-нуклеотидаза) служит аналогично мембранным гликопротеином, который преобразует АМФ в аденозин [2]. CD73 экспрессируется во многих тканях и плотно распределён в мембранах клеток глиобластомы [3].

CD39 и CD73 участвуют в контроле высвобождения аденозина — мощного иммуномодулятора. CD39 и CD73 работают вместе, чтобы контролировать уровень аденозина в тканях и органах: CD39 гидролизует АТФ и АДФ до АМФ, а затем CD73 преобразует АМФ в аденозин [2, 4]. Кроме того, эктонуклеотидаза является важным антигеном иммунокомпетентных клеток (CD73-рецептором), регулирующим созревание и активность Т- и В-лимфоцитов, а также их адгезию к эндотелию. В случае гидролиза фосфатидилинозитоловой связи экто-5'-нуклеотидаза отделяется от клетки. При этом в лимфоцитах нарушаются биосинтез предшественников нуклеиновых кислот и процессы созревания [5].

По результатам исследования на мышах с изменённым геном CD73 сделано предположение, что CD73 играет роль в регуляции процессов обучения, формирования памяти и контроля психомоторной координации [6]. Кроме того, есть данные, указывающие на возможность использования активности ферментов CD39 и CD73 в качестве потенциальных маркёров для диагностики шизофрении [7].

Таким образом, регуляция уровня внеклеточных нуклеотидов с использованием эктонуклеотидаз играет важную роль в понимании того, как работает пуринергическая трансмиссия в тканях, а также её возможных целей при нарушениях развития, таких как аутизм [8].

Для исследования аутизма используют модели на животных, среди которых вальпроатная модель аутизма (ВМА) наиболее распространена [9].

Цель

Целью настоящей работы была оценка активности фермента эктонуклеотидазы в гладкомышечных тканях у 9-месячных крыс с вальпроатной моделью аутизма методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Материал и методы исследования

В эксперименте использованы крысы аутбредной линии Wistar в возрасте 9 мес, которые находились в помещении для экспериментальных животных (температура 22–24 °С, относительная влажность воздуха 40–50%) с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной диете (согласно ГОСТ 33215-2014) при соблюдении правил лабораторной практики проведения доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 1000.4-96), а также правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных

животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1986).

На проведение экспериментов было получено разрешение локального этического комитета Казанского ГМУ (протокол №2 от 15 февраля 2022).

Для моделирования аутизма самкам крыс на 12–13-й день беременности однократно подкожно в область холки вводили натриевую соль вальпроевой кислоты в дозе 500 мг/кг. Рождённых от таких крыс самцов и самок в возрасте 9 мес использовали для экспериментов. В качестве контроля выступали крысы аналогичных возраста и пола, рождённые от интактных крыс, то есть не подвергавшихся никакому лекарственному воздействию. Вальпроатная модель аутизма была валидирована в лаборатории Казанского ГМУ [10].

Исследование начинали по достижении крысами 270±8 дней. Крыс контрольной (N=8) и опытной (N=10) групп гильотинировали под лёгким эфирным наркозом, выделяли мочевой пузырь, матку, семявыносящие протоки, двенадцатиперстную кишку и готовили образцы ткани (2–4 мг). Из одной ткани каждого животного (N) получали до 4 гладкомышечных образцов (n).

Общую эктонуклеотидазную активность определяли путём инкубирования образцов гладкомышечных тканей крысы с АТФ (субстрат реакции) в течение 10 мин с дальнейшей оценкой содержания субстрата и продуктов реакции (АДФ, АМФ) в инкубате методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Эксперименты проводили при 37±0,5 °С в буфере следующего состава (в мМ): HEPES 10, NaCl 135, KCl 5, CaCl₂ 2, MgCl₂ 2, глюкоза 10 [водородный показатель (pH) 7,4]. В серии контрольных экспериментов использовали буфер с АТФ (300 мкМ) без добавления ткани. Реакцию останавливали добавлением 300 мкл 3% хлорной кислоты.

Инкубационную жидкость центрифугировали, центрифугат замораживали для последующего хроматографического анализа. Анализ выполняли на хроматографе производства Shimadzu (Япония) с использованием силикагелевых колонок Supelco с внутренним диаметром 4,6 мм и длиной 150 мм, а также программы LC Solution. Мобильная фаза состояла из KН₂РO₄ 0,2 М и метанола 3% (pH=6,0), скорость потока 1,5 мл/мин, длина волны 260 нм, объём образца 20 мкл. Полное разделение проходило в течение 5,5 мин.

Определение концентрации АТФ проводили путём сравнения площади под кривой с соответствующей площадью у контрольного образца.

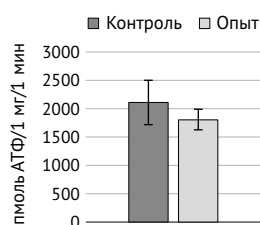


Рис. 1. Активность эктонуклеотидазы двенадцатиперстной кишки крыс с вальпроатной моделью аутизма в возрасте 9 мес. Данные представлены в виде $M \pm m$. Контроль (n=12); опыт (n=11); $p=0,712$

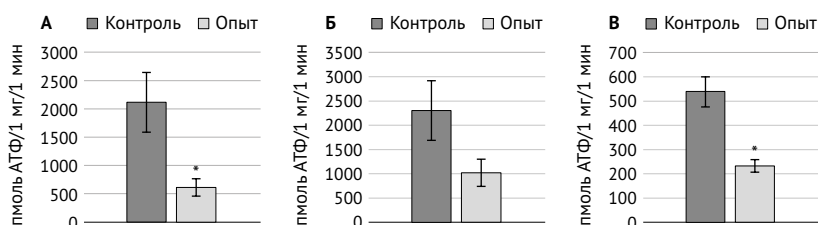


Рис. 2. Активность эктонуклеотидазы в мочеполовой системе крыс с вальпроатной моделью аутизма в возрасте 9 мес. Данные представлены в виде $M \pm m$. А. Семявыносящий проток. Контроль (n=15); опыт (n=10); $*p=0,040$. Б. Мочевой пузырь. Контроль (n=19); опыт (n=12); $p=0,274$. В. Матка. Контроль (n=6); опыт (n=19); $*p=0,010$ по сравнению с контрольной группой

Активность эктонуклеотидаз выражали количеством АТФ (пмоль), разрушенного в 1 мг ткани за 1 мин.

Математическую и статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и IBM SPSS Statistics 26.0. Сравнение групп осуществляли с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибка среднего ($M \pm m$), n — количество использованных мышечных препаратов. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Активность эктонуклеотидазы в образцах двенадцатиперстной кишки крыс с ВМА 9 мес достоверно не отличались от контроля ($p=0,712$) (рис. 1).

В наших предыдущих исследованиях была проведена оценка механической активности кишечника крыс с ВМА 9 мес [11]. Так, карбахолин вызывал сокращения двенадцатиперстной и подвздошной кишки крыс с ВМА 9 мес, при этом не было достоверных различий между контрольной и опытной группами в образцах обеих гладкомышечных тканей. АТФ не оказывал значимого влияния на расслабление двенадцатиперстной и подвздошной кишки 9-месячных крыс с ВМА, так же как и агонист $P2Y$ -рецепторов 2-метилтио-АТФ. Исходя из полученных данных, можно предположить, что у 9-месячных крыс с ВМА пуринергическая трансмиссия в двенадцатиперстной кишке не имеет существенных различий с таковой у контрольных животных.

У крыс с ВМА 9 мес активность эктонуклеотидазы в образцах семявыносящего протока в 3,5 раза ниже, чем в контроле ($p=0,040$) (рис. 2, А). Ранее мы показали, что у 9-месячных крыс с ВМА сократительная активность

семявыносящего протока в ответ на энзиматически стойкий агонист $P2$ -рецепторов α, β -метилтен-АТФ не отличалась от контроля [11]. Полученные здесь результаты свидетельствуют о неоднозначном влиянии пуринергической системы на сокращение семявыносящего протока крыс с ВМА 9 мес.

У 9-месячных крыс с ВМА в образцах мочевого пузыря активность эктонуклеотидазы, хотя и в среднем ниже, но статистически не отличается от значений активности фермента в образцах ткани контрольных животных ($p=0,274$) (рис. 2, Б). В ходе оценки сократительной активности изолированного мочевого пузыря крыс с ВМА 9 мес карбахолин вызывал более значимые, чем в контроле, сокращения мочевого пузыря. Было установлено отсутствие значимых различий в действии α, β -метилтен-АТФ на сокращение гладкомышечной ткани крыс опытной и контрольной групп [11]. Мы предполагаем, что пуринергическая передача в тканях мочевого пузыря 9-месячных крыс имеет такое же значение, как и у контрольных животных.

Активность эктонуклеотидазы в образцах матки крыс с ВМА 9 мес достоверно ниже контрольных значений ($p=0,010$) (рис. 2, В). В ходе фармакологического исследования изолированных гладкомышечных образцов матки крыс с ВМА 9 мес обнаружено, что сокращения, вызванные агонистами $P2$ -рецепторов α, β -метилтен-АТФ и β, γ -метилтен-АТФ, были достоверно ниже контрольных значений. Стимуляция электрическим полем вызывала сокращения изолированных образцов матки крыс с ВМА 9 мес, которые статистически не отличались от контроля [12]. Полученные в ходе хроматографического анализа данные дополняют предположение о том, что изменения сократительной активности матки крыс с ВМА 9 мес связаны с нарушениями, которые происходят на постсинаптической мембране.

В проведённых ранее нами исследованиях было показано, что при моделировании аутизма введением вальпроевой кислоты беременным самкам у потомства крыс 3 мес [13] и 9 мес [11, 12] различается механическая активность двенадцатиперстной, подвздошной кишки, мочевого пузыря, семявыносящего протока и матки по сравнению с контрольными животными.

В качестве модели аутизма была выбрана вальпроатная модель, так как она служит наиболее распространённым вариантом моделирования аутизма [14–17]. Вальпроевая кислота в высоких дозах блокирует гистондеацетилазы — ферменты, которые участвуют в деацетилировании гистоновых белков, что влияет на экспрессию генов. В результате (при введении вальпроевой кислоты беременным самкам) у потомства лабораторных животных развивается фетальный вальпроатный синдром, рассматриваемый в качестве модели аутизма [18].

Наше исследование показывает, что у 9-месячных крыс с ВМА разная активность эктонуклеотидазы в гладкомышечных тканях мочеполовой системы и желудочно-кишечного тракта. Мы установили, что у крыс с ВМА активность эктонуклеотидаз достоверно ниже контрольных значений в гладкомышечных тканях семявыносящего протока и матки. В двенадцатиперстной кишке и мочевом пузыре нет достоверной разницы в сравнении с контрольными значениями.

Доказано, что снижение активности эктонуклеотидаз приводит к уменьшению метаболизма АТФ, что, в свою очередь, приводит к увеличению силы и продолжительности действия агониста на рецептор. Увеличение активности фермента снижает влияние АТФ на рецептор [3].

Ранее нами было показано, что агонисты P2-рецепторов не оказывают значимого влияния на механическую активность кишечника, семявыносящего протока и мочевого пузыря крыс с ВМА 9 мес [11], при этом сокращения изолированной матки значительно ниже контрольных значений [12].

Таким образом, исследование активности эктонуклеотидазы подтверждает, что пуриnergическая сигнальная система вносит определённый вклад в механическую активность кишечника, мочевого пузыря и семявыносящего протока крыс с вальпроатной моделью аутизма 9 мес. Кроме того, результаты доказывают наше раннее предположение о том, что изменения сократимости матки опосредованы нарушениями на постсинаптическом уровне.

Вывод

У крыс 9 мес с вальпроатной моделью аутизма активность эктонуклеотидаз в гладкомышечных тканях семявыносящего протока и матки достоверно ниже контрольных значений, а в тканях двенадцатиперстной кишки и мочевого пузыря отсутствует достоверная разница в сравнении с контролем.

Участие авторов. Д.В.И. — проведение биохимического исследования, написание статьи; Р.А.Х. — проведение биохимического исследования, подготовка обзора литературы; А.У.З. — редактирование текста, окончательное утверждение статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке РФФ (проект №22-25-00030).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

Благодарность. Авторы выражают благодарность Д.О. Никитину и А.В. Никитиной за помощь в моделировании аутизма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zimmermann H. Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolases and ecto-5'-nucleotidase in purinergic signaling: How the field developed and where we are now. *Purinergic Signal*. 2021;17(1):117–125. DOI: 10.1007/s11302-020-09755-6.
2. Robson SC, Sévigny J, Zimmermann H. The E-NTP-Dase family of ectonucleotidases: Structure function relationships and pathophysiological significance. *Purinergic Signal*. 2006;2(2):409–430. DOI: 10.1007/s11302-006-9003-5.
3. Baqi Y. Ecto-nucleotidase inhibitors: Recent developments in drug discovery. *Mini Rev Med Chem*. 2015; 15(1):21–33. DOI: 10.2174/1389557515666150219115141.
4. Turner RJ, Guy TV, Geraghty NJ, Splitt A, Watson D, Brungs D, Carolan MG, Miller AA, de Leon JF, Aghmesheh M, Sluyter R. Low pretreatment CD4⁺CD8⁺ T cell ratios and CD39⁺CD73⁺CD19⁺ B cell proportions are associated with improved relapse-free survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2023;24(16):12538. DOI: 10.3390/ijms241612538.
5. Roberts V, Stagg J, Dwyer KM. The role of ectonucleotidases CD39 and CD73 and adenosine signaling in solid organ transplantation. *Front Immunol*. 2014;5:64. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00064.
6. Zlomuzica A, Burghoff S, Schrader J, Dere E. Superior working memory and behavioural habituation but diminished psychomotor coordination in mice lacking the ecto-5'-nucleotidase (CD73) gene. *Purinergic Signal*. 2013;9(2):175–182. DOI: 10.1007/s11302-012-9344-1.
7. Aliagas E, Villar-Menéndez I, Sévigny J, Roca M, Romeu M, Ferrer I, Martín-Satué M, Barrachina M. Reduced striatal ecto-nucleotidase activity in schizophrenia patients supports the “adenosine hypothesis”. *Purinergic Signal*. 2013;9(4):599–608. DOI: 10.1007/s11302-013-9370-7.
8. Zimmermann FF, Gasparly KV, Siebel AM, Leite CE, Kist LW, Bogo MR, Bonan CD. Analysis of extracellular nucleotide metabolism in adult zebrafish after embryological exposure to valproic acid. *Mol Neurobiol*. 2016;54(5):3542–3553. DOI: 10.1007/s12035-016-9917-z.

9. Zhang Y, Xiang Z, Jia Y, Xue-Ling H, Wang L, Cui W. The Notch signaling pathway inhibitor Dapt alleviates autism-like behavior, autophagy and dendritic spine density abnormalities in a valproic acid-induced animal model of autism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;94:109644. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2019.109644.

10. Семина И.И., Валеева Е.В., Никитин Д.О., Байчурина А.З., Никитина А.В., Шиловская Е.В., Кравцова О.А. Половые различия у крыс в вальпроатной модели аутизма: нарушение социального поведения и изменение экспрессии гена *Drd1* в различных структурах мозга. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2022;72(6):862–879. [Semina II, Valeeva EV, Nikitin DO, Baichurina AZ, Nikitina AV, Shilovskaya EV, Kravtsova OA. Sex differences in rats in the valproate autism model: disorders in social behavior and changes in *Drd1* gene expression in different brain structures. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatelnosti im IP Pavlova*. 2022;72(6):862–879. (In Russ.)] DOI: 10.31857/S0044467722060089.

11. Иванова Д.В., Зиганшин А.У. Оценка нарушений сократительной активности гладкомышечных тканей 9-месячных крыс с моделью аутизма. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022;174(9):306–310. [Ivanova DV, Ziganshin AU. Evaluation of disorders of contractile activity of smooth muscle tissues in 9-month-old rats with a model of autism. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2022;174(9):306–310. (In Russ.)] DOI: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-306-310.

12. Иванова Д.В., Зиганшин А.У. Сравнительная оценка нарушений сокращений изолированной матки крыс с моделью аутизма в возрасте 3 и 9 мес. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023;175(3):321–325. [Ivanova DV, Ziganshin AU. Comparative assessment of disorders contractions of the isolated uterus in 3- and 9-month-old rats with a model of autism. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023;175(3):321–325. (In Russ.)] DOI: 10.47056/0365-9615-2023-175-3-321-325.

13. Зиганшин А.У., Иванова Д.В. Вызванные карбахолом сокращения изолированной тонкой кишки возрастают у крыс с экспериментальным аутизмом,

вызванным вальпроевой кислотой. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(2):99–103. [Ziganshin AU, Ivanova DV. Carbachol-induced contractions of isolated intestine are increased in rats with experimental autism induced by valproic acid. *Ekspperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya*. 2021;84(2):99–103. (In Russ.)] DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-2-99-103.

14. Hirsch MM, Deckmann I, Santos-Terra J, Staevie GZ, Fontes-Dutra M, Carello-Collar G, Körbes-Rockenbach M, Brum Schwingel G, Bauer-Negrini G, Rabelo B, Gonçalves MCB, Corrêa-Velloso J, Naaldijk Y, Castillo ARG, Schneider T, Bambini-Junior V, Ulrich H, Gottfried C. Effects of single-dose antipurinergic therapy on behavioral and molecular alterations in the valproic acid-induced animal model of autism. *Neuropharmacology*. 2020;(167):107930. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2019.107930.

15. Ibi D, Fujiki Y, Koide N, Nakasai G, Takaba R, Hiramatsu M. Paternal valproic acid exposure in mice triggers behavioral alterations in offspring. *Neurotoxicol Teratol*. 2019;(76):106837. DOI: 10.1016/j.ntt.2019.106837.

16. Mirza R, Bhupesh S. A selective peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist benefited propionic acid induced autism-like behavioral phenotypes in rats by attenuation of neuroinflammation and oxidative stress. *Chem Biol Interact*. 2019;(311):108758. DOI: 10.1016/j.cbi.2019.108758.

17. Zheng W, Hu Y, Chen D, Li Y, Wang S. Improvement of a mouse model of valproic acid-induced autism. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2019;(39):718–723. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2019.06.14.

18. Малышев А.В., Аббасова К.Р., Аверина О.А., Соловьёва Л.Н., Гедзун В.Р., Гуляев М.В., Дубынин В.А. Экспериментальная модель аутистического расстройства: индуцированный фетальный вальпроатный синдром. *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология*. 2015;16(3):8–12. [Malyshev AV, Abbasova KR, Averina OA, Solovieva LN, Gedzun VR, Gulyaev MV, Dubynin VA. Fetal valproate syndrome as an experimental model of autism. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 2015;16(3):8–12. (In Russ.)] DOI: 10.3103/S0096392515030074.

Сведения об авторах

Иванова Дарья Викторовна, асс., каф. фармакологии, ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Казань, Россия; ivanovadv96@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0158-5971>

Хабиров Ринат Альбертович, ординатор, каф. внутренних болезней, ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия; rinat.habirov.99@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-9564-8171>

Зиганшин Айрат Усманович, докт. мед. наук, проф., зав. каф., каф. фармакологии, ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Казань, Россия; ayrat.ziganshin@kazangmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9087-7927>

Author details

Daria V. Ivanova, Assist., Depart. of Pharmacology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia; ivanovadv96@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0158-5971>

Rinat A. Khabirov, M.D., Resident, Depart. of Internal Medicine, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia; rinat.habirov.99@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-9564-8171>

Ayrat U. Ziganshin, M.D., D. Sci. (Med.), Prof., Head of Depart., Dept. of Pharmacology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia; ayrat.ziganshin@kazangmu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9087-7927>