

DOI 10.18699/vjgb-24-46

Паттерны экспрессии рецепторов дофамина и основных элементов нейротрофических (BDNF, CDNF) систем в критические периоды онтогенеза в структурах мозга мышей с аутизм-подобным поведением (BTBR) или его отсутствием (C57BL/6 J)

П.Д. Правикова , М.А. Арссан, Е.А. Заливина, Е.М. Кондаурова , Е.А. Куликова ,
И.И. Белокопытова, В.С. Науменко 

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
 PollyPravi@yandex.ru

Аннотация. Анализ механизмов расстройства аутистического спектра (РАС) является актуальной задачей в связи с широкой и постоянно растущей распространенностью этого состояния. Исследование критических периодов нейроонтогенеза представляет интерес, поскольку манифестацию РАС нередко связывают с внутриутробными нарушениями развития головного мозга. Одна из перспективных на сегодняшний день гипотез постулирует связь патогенеза РАС с дисфункцией нейротрансмиттерных и нейротрофических систем. В настоящей работе исследована экспрессия генов ключевых рецепторов дофамина (*Drd1*, *Drd2*), нейротрофического фактора мозга (*Bdnf*), его рецепторов (*Ntrkb2*, *Ngfr*) и опосредующего действие BDNF транскрипционного фактора *Creb1*, а также дофаминового нейротрофического фактора (*Cdnf*) в периоды эмбриогенеза (e14 и e18) и постнатального развития (p14, p28, p60) в гиппокампе и фронтальной коре мышей BTBR с аутистизм-подобным поведением по сравнению с нейротипичной линией C57BL/6 J. У эмбрионов BTBR на 14-й день пренатального развития в гиппокампе и во фронтальной коре установлено увеличение экспрессии гена *Ngfr*, кодирующего рецептор $r75^{NTR}$, трансдукция сигнала которого в эмбриогенезе приводит к активации апоптоза. Снижение экспрессии генов *Cdnf*, *Bdnf* и его рецептора *Ntrkb2*, а также дофаминовых рецепторов (*Drd1*, *Drd2*) у мышей BTBR обнаружено в постнатальный период преимущественно во фронтальной коре, при этом в гиппокампе у половозрелых особей (p60) зафиксировано падение уровня лишь мРНК *Drd2*. Полученные результаты позволяют предположить, что снижение в постнатальном периоде экспрессии генов *Cdnf*, *Bdnf* и *Ntrkb2*, а также дофаминовых рецепторов во фронтальной коре может приводить к существенным изменениям, характерным для РАС, как морфологии нейронов, так и дофаминовой нейротрансмиссии в корковых структурах мозга. Вместе с тем установленный рост экспрессии $r75^{NTR}$ в критический для развития гиппокампа и фронтальной коры 14-й день эмбриогенеза, возможно, является ключевым для формирования раннего аутизма.

Ключевые слова: аутизм; мыши BTBR и C57BL/6 J; BDNF; CDNF; рецепторы дофамина; онтогенез; гиппокамп; фронтальная кора.

Для цитирования: Правикова П.Д., Арссан М.А., Заливина Е.А., Кондаурова Е.М., Куликова Е.А., Белокопытова И.И., Науменко В.С. Паттерны экспрессии рецепторов дофамина и основных элементов нейротрофических (BDNF, CDNF) систем в критические периоды онтогенеза в структурах мозга мышей с аутизм-подобным поведением (BTBR) или его отсутствием (C57BL/6 J). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(4): 407-415. DOI 10.18699/vjgb-24-46

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00028).

Благодарности. Содержание и разведение животных поддержано бюджетным проектом FWNR-2022-0023.

Dopamine receptors and key elements of the neurotrophins (BDNF, CDNF) expression patterns during critical periods of ontogenesis in the brain structures of mice with autism-like behavior (BTBR) or its absence (C57BL/6 J)

P.D. Pravikova , M.A. Arssan, E.A. Zalivina, E.M. Kondaurova , E.A. Kulikova , I.I. Belokopytova, V.S. Naumenko 

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
 PollyPravi@yandex.ru

Abstract. Analysis of the mechanisms underlying autism spectrum disorder (ASD) is an urgent task due to the ever-increasing prevalence of this condition. The study of critical periods of neuroontogenesis is of interest, since the manifestation of ASD is often associated with prenatal disorders of the brain development. One of the currently promising hypotheses postulates a connection between the pathogenesis of ASD and the dysfunction of neurotransmitters and neurotrophins. In this study, we investigated the expression of key dopamine receptors (*Drd1*, *Drd2*), brain-derived neurotrophic factor (*Bdnf*), its receptors (*Ntrkb2*, *Ngfr*) and the transcription factor *Creb1* that mediates BDNF action, as well as cerebral dopamine neurotrophic factor (*Cdnf*) during the critical periods of embryogenesis (e14 and e18) and postnatal development (p14, p28, p60) in the hippocampus and frontal cortex of BTBR mice with autism-like behavior compared to the neurotypical C57BL/6 J strain. In BTBR embryos, on the 14th day of prenatal development, an increase in the expression of the *Ngfr* gene encoding the p75^{NTR} receptor, which may lead to the activation of apoptosis, was found in the hippocampus and frontal cortex. A decrease in the expression of *Cdnf*, *Bdnf* and its receptor *Ntrkb2*, as well as dopamine receptors (*Drd1*, *Drd2*) was detected in BTBR mice in the postnatal period of ontogenesis mainly in the frontal cortex, while in the hippocampus of mature mice (p60), only a decrease in the *Drd2* mRNA level was revealed. The obtained results suggest that the decrease in the expression levels of CDNF, BDNF-TrkB and dopamine receptors in the frontal cortex in the postnatal period can lead to significant changes in both the morphology of neurons and dopamine neurotransmission in cortical brain structures. At the same time, the increase in p75^{NTR} receptor gene expression observed on the 14th day of embryogenesis, crucial for hippocampus and frontal cortex development, may have direct relevance to the manifestation of early autism.

Key words: autism; BTBR and C57BL/6 J mice; BDNF; CDNF; dopamine receptors; ontogenesis; hippocampus; frontal cortex.

For citation: Pravikova P.D., Arssan M.A., Zalivina E.A., Kondaurova E.M., Kulikova E.A., Belokopytova I.I., Naumenko V.S. Dopamine receptors and key elements of the neurotrophins (BDNF, CDNF) expression patterns during critical periods of ontogenesis in the brain structures of mice with autism-like behavior (BTBR) or its absence (C57BL/6 J). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(4):407-415. DOI 10.18699/vjgb-24-46

Введение

Впервые описанный еще в 1943 г. (Kanner, 1943) аутизм (ныне – расстройство аутистического спектра, РАС) – группа состояний, вызванных нарушениями пренатального и раннего постнатального нейроонтогенеза, сохраняется у человека на протяжении жизни. Расстройство аутистического спектра характеризуется стойким снижением способности инициировать и поддерживать социальные взаимодействия и коммуникацию, а также рядом ограниченных и повторяющихся негибких паттернов поведения. Данные Центра по контролю и профилактике заболеваний США показывают неуклонное повышение числа детей с диагнозом РАС: за 2023 г. один ребенок из 36, тогда как в 2010 г. встречаемость РАС составляла 1 %. Вместе с тем, согласно данным как Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), так и Минздрава России (Письмо Минздрава России от 08.05.2013 № 15-3/10/1-2140), распространенность РАС составляет около 1 % детской популяции.

В настоящее время нет единой концепции патогенеза РАС, тем не менее большинство гипотез связывает развитие этого состояния с ранними нейроонтогенетическими нарушениями, приводящими к искажениям функций психики (Hashem et al., 2020). В связи с этим особое внимание при исследовании механизмов возникновения РАС уделяется раннему внутриутробному развитию мозга (Courchesne et al., 2020). Исследования с применением индуцированных стволовых клеток, полученных от людей с РАС, подтвердили пренатальное происхождение расстройства (Adhya et al., 2021). Установлены высокая скорость пролиферации клеток, снижение степени дифференцировки и созревания ГАМК-ергических интернейронов (Mariani et al., 2015). Аномальная пролиферация и избыточный пренатальный нейрогенез у людей с РАС, очевидно, объясняют данные об увеличении числа как корковых нейронов (Courchesne et al., 2011), так и в целом массы мозга (Sacco et al., 2015). Кроме того, пик экспрессии большинства

предполагаемых генов риска развития РАС происходит именно в пренатальный период (Satterstrom et al., 2020) и установлен в ряде областей мозга, включая корковые зоны и гиппокамп (Krishnan et al., 2016; Courchesne et al., 2019). Одна из морфологических особенностей РАС – снижение объема, а иногда и полная агенезия мозолистого тела (Frazier, Hardan, 2009). Вместе с тем изменение объема мозолистого тела, очевидно, является следствием внутриутробных нарушений развития, поскольку у млекопитающих его формирование приходится на последнюю стадию эмбриогенеза (Richards et al., 2004).

Нейротрансмиттер дофамин (ДА) участвует в модуляции процессов обучения, вознаграждения и эмоционального контроля, проявление которых нарушается при аутизме (Hashem et al., 2020). У людей с РАС отмечается ряд полиморфизмов в генах, кодирующих ДА-транспортер (DiCarlo et al., 2019), ферменты метаболизма ДА (Yoo et al., 2013) и ДА-рецепторы (Hettinger et al., 2008; Staal et al., 2015). Кроме того, ДА-нейроны, полученные из плюрипотентных стволовых клеток пациентов, страдающих аутизмом, характеризуются морфологическими изменениями и нарушениями в Ca²⁺ трансдукции (Nguyen et al., 2018). На основе этих данных предположена связь патогенеза РАС с дисфункцией ДА-системы мозга (Pavál, 2017).

Нейротрофические факторы привлекают особое внимание, поскольку они играют ключевую роль в регуляции роста и развития нейронов, а также в контроле нейропластичности (Порова, Naumenko, 2019). Нейротрофический фактор мозга (BDNF) – один из наиболее изученных нейротрофинов, который контролирует синаптогенез, запускает долговременную потенциацию и принимает участие в формировании памяти (Castrén, Antila, 2017). Показана связь между пониженным уровнем BDNF в крови у новорожденных и увеличенным риском развития РАС (Liu et al., 2021). В то же время посмертные исследования мозга у детей с РАС установили увеличение числа префронталь-

ных нейронов, что может быть следствием нарушения активности BDNF-системы и приводить к избытку образования аксональных связей (Anghelescu, Dettling, 2012). Дофаминовый нейротрофический фактор мозга (CDNF), впервые описанный в 2007 г., – неконвенциональный фактор роста, который локализован преимущественно в полосатом теле, черной субстанции, гиппокампе, коре и мозжечке (Lindholm et al., 2007, 2008). В настоящее время CDNF проходит клинические испытания в качестве лекарства от болезни Паркинсона (Lindholm, Saarna, 2022), поскольку он способен замедлять дегенерацию ДА-нейронов (Voutilainen et al., 2011). Вместе с тем взаимосвязь нейротрофинов и ДА-системы на разных этапах онтогенеза в контексте развития аутизма практически не изучена.

Целью исследования стало выявление роли ДА-системы и нейротрофических факторов в развитии аутизма путем анализа паттернов экспрессии дофаминовых рецепторов (*Drd1*, *Drd2*) и *Cdnf*, а также *Bdnf*, его рецепторов (*Ntrkb2*, *Ngfr*) и транскрипционного фактора *Creb1*, участвующего в реализации эффектов BDNF, в структурах мозга мышей линии BTBR, являющихся моделью аутизма, по сравнению с нейротипичными мышами линии C57BL/6J в различные периоды онтогенеза.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Линия мышей BTBR – признанная идиопатическая модель аутизма (Crawley, 2023), поскольку характеризуется сниженным уровнем социального взаимодействия, а также стереотипностью поведения (Bolivar et al., 2007; McFarlane et al., 2008). Эксперименты проводили на самцах мышей, свободных от видоспецифических патогенов (SPF), инбредных линий BTBR T+tf/J (BTBR) и C57BL/6J с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023). Животных содержали в стандартных условиях при искусственном 14-часовом освещении, постоянных влажности (60 %) и температуре (+23 °C) и свободном доступе к сбалансированному корму и воде. Все исследования с участием животных были одобрены Комиссией по биоэтике ИЦиГ СО РАН и соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ (Приложение к Приказу Министерства здравоохранения РФ № 267 от 19.06.2003), а также международным рекомендациям по работе с животными.

Дизайн эксперимента. При аутизме нарушаются регулируемая гиппокампом функция консолидации памяти, а также исполнительная функция и социальное поведение, за осуществление которых ответственна главным образом фронтальная кора. Кроме того, на посмертных срезах головного мозга у людей с РАС обнаружены уменьшенный размер клеток и повышенная плотность их как в гиппокампе, так и во фронтальной коре (Kemper, Vauman, 1998; Courchesne et al., 2011). Исходя из этого исследование данных структур мозга в контексте механизмов манифестации РАС представляло особый интерес.

Одна из самых изменчивых структур при патогенезе РАС – гиппокамп, формирование которого начинается на 14-й день эмбриогенеза (Mangale et al., 2008), при этом на

18-й день пренатального развития он уже сформирован (Loones et al., 2000). Кроме того, к 17-му дню эмбриогенеза окончательно формируется мозолистое тело (Richards et al., 2004), агенезия которого регистрируется как у линии мышей BTBR (Bohlen et al., 2012), так и часто у людей с РАС (Frazier, Hardan, 2009). Один из критериев РАС – нарушения функционирования сенсорных систем вследствие повышенной или пониженной чувствительности к стимулам (DSM-5, МКБ-11). Поскольку у грызунов глаза открываются на 12–13-й день и их сенсорное восприятие становится полноценным (Rochefort et al., 2009), представляло интерес исследовать группу мышей в возрасте 14 дней. Ювенильный период – важный постнатальный этап развития при исследовании аутизм-подобного поведения, так как у мышей линии BTBR низкий уровень социального взаимодействия проявляется уже на 28-й день после рождения (McFarlane et al., 2008). Таким образом, были выбраны следующие периоды онтогенеза: 14-й и 18-й день эмбриогенеза, а также 14, 28 и 60-й (достижение половозрелости) дни постнатального развития.

Самцов (p14, p28, p60), а также эмбрионов на 14-й или 18-й день пренатального развития линий BTBR и C57BL/6J выводили из эксперимента методом декапитации, а их гиппокамп и префронтальную кору извлекали на льду, замораживали в жидком азоте и хранили при –80 °C. Для групп e14 и e18 также проводили биопсию части хвоста для последующего генотипирования Y-хромосомы (*Sry*). Половую принадлежность мышей p14 и старше определяли по первичным половым признакам при вскрытии. Количество особей в экспериментальной группе определенного дня онтогенеза (e14, e18, p14, p28, p60) составляло 10 для каждой линии.

Получение эмбрионов и определение их половой принадлежности. Для получения эмбрионов в условиях *in vivo* половозрелых самок мышей линий BTBR и C57BL/6J, находящихся в стадии эструса, которую определяли с помощью анализа влагалищных мазков, ссаживали на ночь с самцами соответствующих линий. День обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке считали первым днем беременности. Для генотипирования Y-хромосомы (*Sry*) геномную ДНК выделяли из хвостовой ткани эмбрионов: помещали на два часа при 50 °C в лизирующий раствор, содержащий протеазу К, с последующей экстракцией в насыщенном солевом растворе в соответствии с ранее описанным протоколом (Aljanabi, Martinez, 1997). Образцы ДНК были амплифицированы с праймерами (см. таблицу) (Wambach et al., 2014), после чего продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2 % агарозном геле и визуализировали с помощью окрашивания бромистым этидием. В работе использовали эмбрионы с наличием Y-хромосомы.

ОТ-ПЦР. Выделение общей РНК. Общая РНК была выделена с применением TRIzol Reagent (Life Technologies, США) в соответствии с инструкцией производителя. Полученную РНК разводили водой до концентрации 0.125 мкг/мкл и хранили при –70 °C. Присутствие примесей геномной ДНК в препаратах РНК определяли в соответствии с протоколом, описанным ранее (Kulikov et al., 2005; Naumenko, Kulikov, 2006; Naumenko et al., 2008).

Нуклеотидные последовательности праймеров и их характеристики

Ген	Нуклеотидная последовательность	T _{отж} , °C	Длина продукта ПЦР, п. н.
<i>rPol2</i>	F 5'-tgtgacaactccatacatgc-3' R 5'-ctctcttagtgaattgcgtact-3'	60	194
<i>Cdnf</i>	F 5'-cggtgaccctgtggaagatg-3' R 5'-acataattggggccagctc-3'	60	130
<i>Bdnf</i>	F 5'-tagcaaaaagagaattggctg-3' R 5'-ttcaggtcatggatgtcc-3'	59	255
<i>Ntrk2</i>	F 5'-cattcactgtgagagcaacc-3' R 5'-atcagggtgtagtctcgttatt-3'	63	175
<i>Ngfr</i>	F 5'-acaacaccagcaccagga-3' R 5'-cacaaccacagcagccaaga-3'	62	171
<i>Creb1</i>	F 5'-gctggctaacaatggtagcggat-3' R 5'-tggttgctggcactagaat-3'	64	140
<i>Drd1</i>	F 5'-ggaaccctgtgcaatgctctc-3' R 5'-ccagccaaccacacaatacatcg-3'	59	222
<i>Drd2</i>	F 5'-tccgccactcttgacatacattg-3' R 5'-cccattccacagcctccttaag-3'	64	203
<i>Sry</i>	F 5'-ttgtctagagatggaggccatgcaa-3' R 5'-ccaactcctgtgacatttagcctccga-3'	64	268

Обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция. Обратную транскрипцию и количественную ПЦР в реальном времени проводили согласно протоколу, описанному в деталях ранее (Kulikov et al., 2005; Naumenko, Kulikov, 2006; Naumenko et al., 2008). Использовали два типа стандартов: внешний и внутренний. Внутренний стандарт (мРНК *Polr2a*) применяли для контроля обратной транскрипции в качестве основы для расчета уровня мРНК исследуемых генов. Внешним стандартом служила ДНК мыши известной концентрации, что позволяло контролировать ПЦР и определять число копий мРНК исследуемых генов и *Polr2a* в образцах (Kulikov et al., 2005; Naumenko, Kulikov, 2006; Naumenko et al., 2008). Праймеры, используемые для амплификации кДНК исследуемых генов (см. таблицу), разработаны на основе последовательностей, опубликованных в базе данных Ensembl database, и синтезированы в компании «БИОССЕТ» (Россия).

Статистический анализ. Данные представлены в виде среднего значения ± ошибка среднего (m ± SEM). Для парного сравнения средних между линиями мышей определенного дня развития применялся критерий Стьюдента для независимых выборок. Достоверными считались различия при критерии значимости $p < 0.05$. Нормальность распределения проверялась с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Критерий Диксона использовали для выявления и исключения крайних отклонений из анализа.

Результаты

У мышей линии BTBR в гиппокампе зафиксировано достоверное увеличение уровня мРНК гена *Drd1* лишь на 14-й день постнатального развития по сравнению с линией C57BL/6 J, тогда как во фронтальной коре обнаружено, напротив, снижение на 28-й день постнатального периода (рис. 1, a). В то же время для половозрелых особей (p60)

как в гиппокампе, так и во фронтальной коре не было зафиксировано межлинейных различий в уровне экспрессии гена *Drd1*, который в гиппокампе существенно снижался по сравнению с другими этапами постнатального развития (p14, p28) до значений внутриутробного периода (e18).

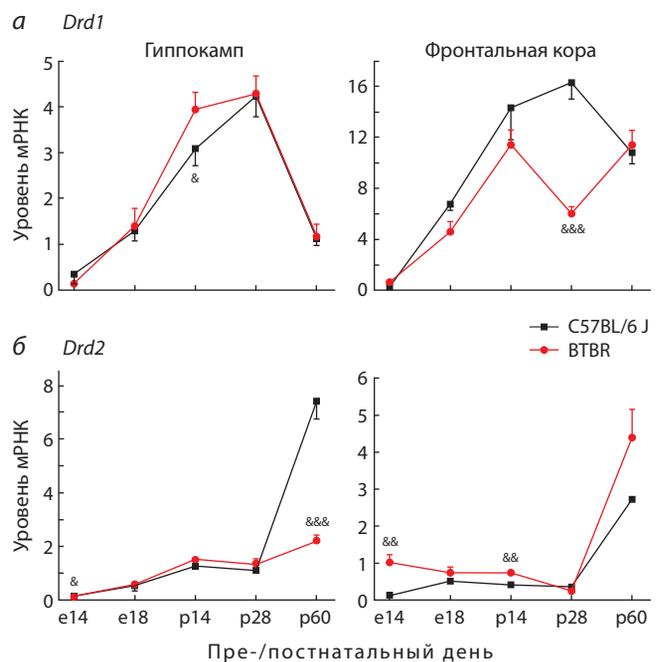


Рис. 1. Уровень мРНК генов *Drd1* (a) и *Drd2* (б) в гиппокампе и во фронтальной коре у мышей линий C57BL/6 J и BTBR в различные периоды пре- и постнатального развития.

Здесь и на рис. 2–4: экспрессия гена представлена как число копий кДНК соответствующего гена на 100 копий кДНК *Polr2a*. n = 8–10.

Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – межлинейное сравнение в пределах определенного дня развития.

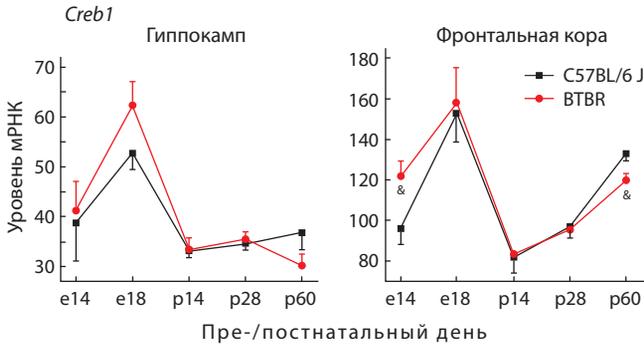


Рис. 2. Уровень мРНК гена, кодирующего транскрипционный фактор CRE-связывающего белка (*Creb1*), в гиппокампе и во фронтальной коре у мышей линий C57BL/6 J и BTBR в различные периоды пре- и постнатального развития.

Достоверность различий: * $p < 0.05$ – межлинейное сравнение в пределах определенного дня развития.

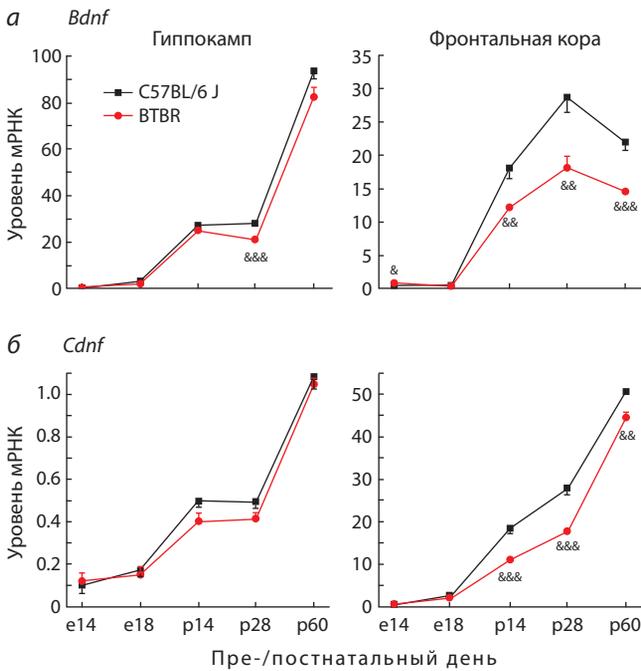


Рис. 3. Уровень мРНК генов *Bdnf* (а) и *Cdnf* (б) в гиппокампе и во фронтальной коре у мышей линий C57BL/6 J и BTBR в различные периоды пре- и постнатального развития.

Достоверность различий: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – межлинейное сравнение в пределах определенного дня развития.

Установлено увеличение уровня мРНК гена *Drd2* во фронтальной коре у эмбрионов линии BTBR на 14-й день пренатального развития, которое нивелировалось на 18-й день эмбриогенеза (см. рис. 1, б). Вместе с тем у мышей BTBR во фронтальной коре зафиксировано увеличение уровня экспрессии гена *Drd2* на 14-й день постнатального развития, при этом при достижении половой зрелости (p60) достоверных отличий не обнаружено. Между тем в гиппокампе межлинейные различия в уровне мРНК гена *Drd2* были установлены лишь у половозрелых мышей: у линии BTBR зафиксировано снижение, по сравнению с

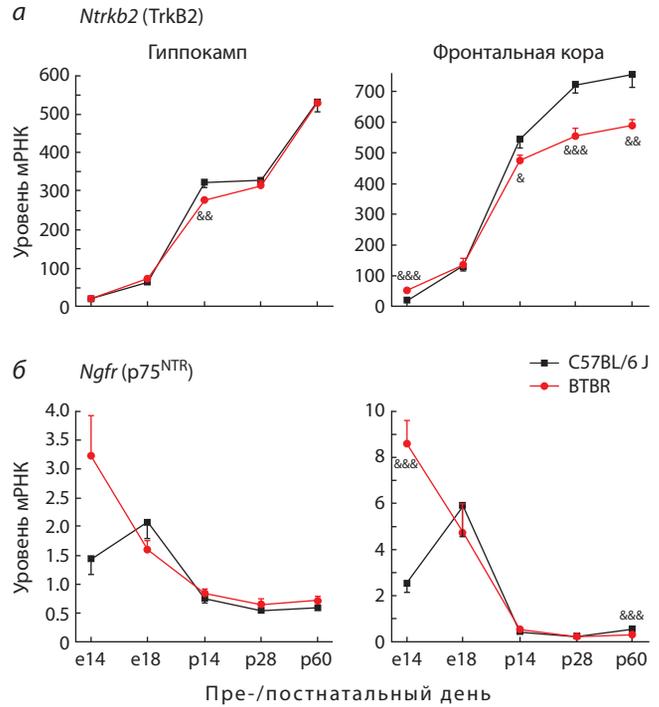


Рис. 4. Уровень мРНК генов *Ntrkb2* (а) и *Ngfr* (б) в гиппокампе и во фронтальной коре у мышей линий C57BL/6 J и BTBR в различные периоды пре- и постнатального развития.

Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – межлинейное сравнение в пределах определенного дня развития.

группой C57BL/6J, у которой наблюдалось резкое увеличение в уровне мРНК *Drd2* после 28-го дня постнатального периода.

Во фронтальной коре у линии BTBR зафиксировано увеличение уровня мРНК гена *Creb1* на 14-й день эмбриогенеза, тогда как у мышей в возрасте 60 дней установлено, напротив, снижение (рис. 2). Данная динамика уровня экспрессии *Creb1* у линии BTBR согласуется с изменениями в уровне мРНК гена *Bdnf*: на 14-й день эмбриогенеза – увеличение, на 60-й день постнатального развития – снижение (рис. 3, а). В то же время в гиппокампе не выявлено межлинейных различий в экспрессии гена *Creb1* в рассматриваемые периоды онтогенеза. Наряду с этим в гиппокампе и во фронтальной коре пик экспрессии гена *Creb1* приходился на 18-й день эмбриогенеза, при этом во фронтальной коре минимальное значение в уровне мРНК *Creb1* – 14-й день постнатального периода (см. рис. 2).

У мышей линии BTBR во фронтальной коре в исследуемые периоды постнатального развития (p14, p28, p60) установлено снижение уровня мРНК транскрибируемого экзона гена *Bdnf*, тогда как в гиппокампе межлинейные различия установлены только на 28-й день постнатального развития (см. рис. 3, а). Выявленные изменения в экспрессии *Bdnf* во фронтальной коре в постнатальный период у мышей линии BTBR согласуются с уменьшением в уровне мРНК гена *Ntrkb2* (рис. 4, а), кодирующего основной рецептор нейротрофина BDNF – тирозинкиназный рецептор B (TrkB).

Сходным образом с изменениями в уровне мРНК гена *Bdnf* во фронтальной коре в постнатальный период у мышей линии BTBR менялась динамика уровня экспрессии гена *Cdnf*: снижение уровня мРНК *Cdnf* на 14, 28, 60-й дни постнатального развития (см. рис. 3, б). Вместе с тем в гиппокампе не было установлено межлинейных различий в уровне экспрессии гена *Cdnf* в периоды как внутриутробного, так и постнатального развития (см. рис. 3, б), при этом вне зависимости от линии резкий рост в экспрессии генов *Cdnf*, *Bdnf* и *Ntrkb2* наблюдался после 28-го дня постнатального развития.

При анализе динамики уровня мРНК гена *Ngfr*, кодирующего рецептор $p75^{NTR}$ (рецептор предшественника BDNF: proBDNF), зафиксировано его увеличение на 14-й день эмбриогенеза у линии BTBR как в гиппокампе, так и во фронтальной коре (см. рис. 4, б). Вместе с тем во фронтальной коре на 60-й день постнатального развития, при достижении половозрелости, у мышей BTBR уровень мРНК гена *Ngfr* достоверно снижался. Пик уровня экспрессии в исследуемых структурах мозга у линии BTBR наблюдался на 14-й день пренатального развития, тогда как у мышей линий C57BL/6 J – на 18-й день эмбриогенеза (см. рис. 4, б) на фоне увеличения мРНК гена *Creb1* (см. рис. 2).

Обсуждение

У людей, страдающих РАС, отмечаются изменения в морфологии нейронов (Minshew, Williams, 2007). В связи с этим анализ нейротрофинов является перспективной задачей для исследования механизмов возникновения аутизма. Как известно, белок BDNF синтезируется в виде предшественника (proBDNF), который затем расщепляется до зрелой формы (mBDNF) (Lessmann et al., 2003). mBDNF ответственен за увеличение синаптической пластичности, тогда как proBDNF, напротив, опосредует ее снижение (Koshimizu et al., 2009). proBDNF, уровень экспрессии которого повышен в пренатальный период (Yang et al., 2009), – ключевой нейротрофический фактор, регулирующий развитие центральной нервной системы посредством влияния на нейрогенез (Koshimizu et al., 2009). Кроме того, увеличенный уровень proBDNF был установлен на посмертных срезах веретенообразной извилины у людей с аутизмом (Garcia et al., 2012), что может быть причиной снижения как дифференцирования нейронов, так и образования на них дендритных шипиков (Teng et al., 2005). Действие BDNF опосредуется двумя рецепторами, TrkB с тирозинкиназной активностью и $p75^{NTR}$. Ранее было выдвинуто предложение рассмотреть $p75^{NTR}$ в качестве биомаркера РАС, поскольку в периферической крови было обнаружено повышение уровня его мРНК у людей, страдающих аутизмом (Segura et al., 2015).

В настоящей работе нами установлено, что на 14-й день эмбриогенеза у мышей линии BTBR в гиппокампе и во фронтальной коре, когда нейрогенез в этих структурах должен достигать максимума (Finlay, Darlington, 1995; Chen et al., 2017), уровень мРНК гена *Ngfr*, кодирующего рецептор $p75^{NTR}$, повышен, причем к 18-му дню пренатального развития эти различия уже нивелируются. Несмотря на то что пути трансдукции сигнала $p75^{NTR}$ чрез-

вычайно разнообразны (Lu et al., 2005), известно о стимуляции клеточной смерти при связывании proBDNF с рецепторами $p75^{NTR}$ (Teng et al., 2005). Можно предположить, что у мышей BTBR на 14-й день пренатального развития повышена апоптотическая активность в гиппокампе и фронтальной коре на фоне нарушений синаптогенеза и снижения способности нейронов к формированию функциональных связей, что приводит к поведенческому дефициту, наблюдаемому при аутизме (Wei et al., 2014). С другой стороны, усиление апоптоза может приводить к агенезии мозолистого тела, фиксируемой у мышей BTBR (Bohlen et al., 2012), а также нередко у людей при аутизме (Frazier, Hardan, 2009). Вместе с тем пик уровня мРНК *Ngfr* у нейротипичной линии C57BL/6 J в гиппокампе и во фронтальной коре приходился на 18-й день эмбриогенеза, который затем резко снижался на фоне окончания нейрогенеза в этих клеточных популяциях (Finlay, Darlington, 1995; Chen et al., 2017). Обнаруженное во фронтальной коре увеличение уровня экспрессии рецептора $p75^{NTR}$ у мышей BTBR на 14-й день эмбриогенеза сопровождается ростом уровня мРНК транслируемого экзона *Bdnf*, его транскрипционного фактора *Creb1*, а также гена *Ntrkb2*, кодирующего TrkB, рецептор mBDNF. По всей видимости, увеличение экспрессии BDNF-TrkB-системы является компенсаторным механизмом в ответ на предполагаемый рост апоптотической активности, опосредованной рецепторами $p75^{NTR}$, поскольку BDNF при связывании с TrkB запускает синтез белков, рост и созревание нейронов (Fenner, 2012). В то же время в постнатальный период у мышей линии BTBR во фронтальной коре установлено снижение уровня экспрессии как *Bdnf*, так и его рецептора *Ntrkb2* (TrkB) с 14-го дня после рождения и до половой зрелости, что может указывать на падение нейропротекторных и нейротрофических свойств корковых структур мозга мышей и приводить к аутизм-подобному поведению. В подтверждение этого ранее установлено, что сверхэкспрессия BDNF в гиппокампе снижает у мышей BTBR тревожность и стереотипное поведение, являющиеся диагностическими критериями при РАС (Ichibaeva et al., 2023).

На линии BTBR установлено, что нокдаун *Cc2d1a/* Freud-1 в гиппокампе не повлиял на пространственную память и фосфорилирование транскрипционного фактора CREB (Belokopytova et al., 2022), хотя такой эффект был обнаружен на мышцах линии C57BL/6 J (Kondaurova et al., 2021). На основании этих данных было предположено нарушение функциональной активности транскрипционного фактора CREB (стимулирующего экспрессию BDNF) у мышей BTBR, что может быть причиной установленных у них в настоящей работе нарушений BDNF-системы.

Расстройством аутистического спектра часто сопровождается дисфункцией в работе некоторых нейротрансмиссерных систем (Rodnyu et al., 2023), в частности отмечены повышенный уровень серотонина (Pourhamzeh et al., 2022), а также нарушения работы DA-системы мозга, проявляющиеся в виде дисфункции как его метаболизма (Yoo et al., 2013), так и трансдукции сигнала (Staal et al., 2015; DiCarlo et al., 2019). Нейротрансмиссер дофамин может оказывать влияние на клеточную пролиферацию и

дифференциацию клеток конечного мозга в эмбриональный период развития, при этом блокада ДА-рецептора 1-типа (D₁R) приводит к снижению скорости клеточного деления, тогда как стимуляция ДА-рецептора 2-го типа (D₂R), напротив, – к его активации (Porolo et al., 2004). С другой стороны, трансдукция ДА-сигнала при активации D₂R снижает миграцию ГАМК интернейронов конечного мозга (Crandall et al., 2007), что может приводить к нарушению процессов торможения в корковых зонах, которые отмечаются как у мышей линии BTBR (Cellot et al., 2016), так и зачастую у людей, страдающих аутизмом (Enticott et al., 2013). Эти данные хорошо согласуются с выявленным нами повышением экспрессии гена *Drd2* во фронтальной коре и гиппокампе мышей BTBR на 14-й день пренатального развития, которое, вероятно, может способствовать нарушениям формирования и функционирования данных структур мозга.

Имеется большое количество данных о взаимосвязи BDNF- и ДА-систем. Например, BDNF предложен в качестве перспективного агента в лечении болезни Паркинсона, учитывая его стимулирующее влияние как на высвобождение ДА (Neal et al., 2003), так и в целом трофический эффект на ДА-нейроны (Palasz et al., 2020) при активации экспрессии *Bdnf* (Küppers, Beyer, 2001). В связи с этим выявленные на 14-й день эмбриогенеза у линии BTBR однонаправленные изменения экспрессии как D₂R, так и BDNF-TrkB согласуются с представлениями о взаимосвязи дофаминовой и BDNF-систем. При этом зарегистрированное снижение уровня мРНК *Drd2* в гиппокампе у мышей BTBR половозрелого возраста на фоне отсутствия изменений в экспрессии генов нейротрофической системы, возможно, вследствие нарушения CREB-зависимого эффекторного пути (Belokopytova et al., 2022), приводит к поведенческому дефициту памяти и обучения. Вместе с тем уровень экспрессии гена *Drd1* не изменялся у линии BTBR в исследуемые периоды эмбриогенеза в гиппокампе и во фронтальной коре. В то же время постнатальные межлинейные различия в уровне мРНК гена *Drd1* выявлены как в гиппокампе, так и во фронтальной коре. У мышей BTBR уровень экспрессии гена *Drd1* в гиппокампе был повышен на 14-й день постнатального развития, тогда как во фронтальной коре, напротив, установлено снижение, но уже в ювенильный период (p28). Несмотря на то что при достижении половой зрелости (p60) не установлены межлинейные различия в уровне экспрессии *Drd1* в исследуемых структурах мозга, зафиксированные изменения уровня мРНК *Drd1* в критические периоды после рождения могут быть предпосылками к нарушениям обучения и памяти, наблюдаемым у мышей BTBR уже в ювенильном возрасте (McFarlane et al., 2008). Поскольку обнаруженное снижение уровня мРНК *Drd1* во фронтальной коре мышей BTBR на 28-й день после рождения сопровождалось падением экспрессии генов *Bdnf* и *Ntrkb2* (TrkB), предполагается участие BDNF-TrkB-сигнала в регуляции экспрессии D₁R. К тому же известно, что сверхэкспрессия *Bdnf* в гиппокампе мышей BTBR приводит к увеличению экспрессии гена *Drd1* на фоне снижения тревожности и стереотипии (Ilchibaeva et al., 2023).

С регуляцией нейротрансмиссии ДА-системы также нередко связывают открытый сравнительно недавно не-

канонический нейротрофин CDNF, обладающий нейропротекторными свойствами при состояниях, связанных с дегенерацией ДА-нейронов (Voutilainen et al., 2011). На сегодняшний день отсутствуют какие-либо данные о роли CDNF в патогенезе РАС. Нами впервые обнаружено снижение уровня экспрессии гена *Cdnf* во фронтальной коре мышей BTBR с аутизм-подобным поведением на протяжении всего исследованного периода постнатального развития, начиная с открытия глаз (p14) и заканчивая наступлением половой зрелости (p60). Учитывая, что для CDNF характерно антиапоптотическое и нейротрофическое действие (Voňok et al., 2018), предполагается, что у мышей BTBR во фронтальной коре повышен риск активации клеточной гибели и снижены цитопротективные свойства в постнатальный период развития, что может приводить в том числе к нарушениям ДА-нейротрансмиссии и манифестации аутизм-подобного поведения.

Заключение

Таким образом, в гиппокампе и во фронтальной коре мышей BTBR, характеризующихся аутизм-подобным поведением, была показана существенная дисрегуляция паттернов экспрессии ключевых рецепторов ДА-системы мозга, *Cdnf*, *Bdnf* и его рецепторов, а также транскрипционного фактора CREB. Предположено, что обнаруженные нарушения экспрессии исследуемых генов на 14-й день эмбриогенеза являются критическими для формирования аутизм-подобного фенотипа. Вместе с тем снижение экспрессии *Cdnf*, а также *Bdnf* и его рецептора *Ntrkb2* во фронтальной коре в исследуемые периоды постнатального развития, по всей видимости, способствует критическому изменению морфологии нейронов корковых структур мозга. В то же время установленное снижение экспрессии *Drd2* в постнатальный период может быть связано с нарушениями обучения и памяти, наблюдаемыми у мышей линии BTBR.

Список литературы / References

- Adhya D., Swarup V., Nagy R., Dutan L., Shum C., Valencia-Alarcyn E.P., Jozwik K.M., Mendez M.A., Horder J., Loth E., Nowosiad P., Lee I., Skuse D., Flinter F.A., Murphy D., McAlonan G., Geschwind D.H., Price J., Carroll J., Srivastava D.P., Baron-Cohen S. Atypical neurogenesis in induced pluripotent stem cells from autistic individuals. *Biol. Psychiatry*. 2021;89(5):486-496. DOI 10.1016/j.biopsych.2020.06.014
- Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res.* 1997;25(22):4692-4693. DOI 10.1093/nar/25.22.4692
- Anghelescu I., Dettling M. Neuron number in children with autism. *JAMA*. 2012;307(8):783. DOI 10.1001/jama.2012.191
- Belokopytova I.I., Kondaurova E.M., Kulikova E.A., Ilchibaeva T.V., Naumenko V.S., Popova N.K. Effects of the *Cc2d1a*/Freud-1 knock-down in the hippocampus of BTBR mice on the autistic-like behavior, expression of serotonin 5-HT_{1A} and D₂ dopamine receptors, and CREB and NF-κB intracellular signaling. *Biochemistry (Mosc.)*. 2022;87(10):1206-1218. DOI 10.1134/S0006297922100145
- Bohlen M.O., Bailoo J.D., Jordan R.L., Wahlsten D. Hippocampal commissure defects in crosses of four inbred mouse strains with absent corpus callosum. *Genes Brain Behav.* 2012;11(7):757-766. DOI 10.1111/j.1601-183X.2012.00802.x
- Bohok V., Yu L.Y., Palgi J., Arumäe U. Antioxidative CXXC peptide motif from mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor an-

- tagonizes programmed cell death. *Front. Cell Dev. Biol.* 2018;6:106. DOI 10.3389/fcell.2018.00106
- Bolivar V.J., Walters S.R., Phoenix J.L. Assessing autism-like behavior in mice: variations in social interactions among inbred strains. *Behav. Brain Res.* 2007;176(1):21-26. DOI 10.1016/j.bbr.2006.09.007
- Castrén E., Antila H. Neuronal plasticity and neurotrophic factors in drug responses. *Mol. Psychiatry.* 2017;22(8):1085-1095. DOI 10.1038/mp.2017.61
- Cellot G., Maggi L., Di Castro M.A., Catalano M., Migliore R., Migliore M., Scattoni M.L., Calamandrei G., Cherubini E. Premature changes in neuronal excitability account for hippocampal network impairment and autistic-like behavior in neonatal BTBR T+tf/J mice. *Sci. Rep.* 2016;6:31696. DOI 10.1038/srep31696
- Chen V.S., Morrison J.P., Southwell M.F., Foley J.F., Bolon B., Elmore S.A. Histology atlas of the developing prenatal and postnatal mouse central nervous system, with emphasis on prenatal days E7.5 to E18.5. *Toxicol. Pathol.* 2017;45(6):705-744. DOI 10.1177/0192623317728134
- Courchesne E., Mouton P.R., Calhoun M.E., Semendeferi K., Ahrens-Barbeau C., Hallet M.J., Barnes C.C., Pierce K. Neuron number and size in prefrontal cortex of children with autism. *JAMA.* 2011;306(18):2001-2010. DOI 10.1001/jama.2011.1638
- Courchesne E., Pramparo T., Gazestani V.H., Lombardo M.V., Pierce K., Lewis N.E. The ASD Living Biology: from cell proliferation to clinical phenotype. *Mol. Psychiatry.* 2019;24(1):88-107. DOI 10.1038/s41380-018-0056-y
- Courchesne E., Gazestani V.H., Lewis N.E. Prenatal origins of ASD: The when, what, and how of ASD development. *Trends Neurosci.* 2020;43(5):326-342. DOI 10.1016/j.tins.2020.03.005
- Crandall J.E., McCarthy D.M., Araki K.Y., Sims J.R., Ren J.Q., Bhidé P.G. Dopamine receptor activation modulates GABA neuron migration from the basal forebrain to the cerebral cortex. *J. Neurosci.* 2007;27(14):3813-3822. DOI 10.1523/JNEUROSCI.5124-06.2007
- Crawley J.N. Twenty years of discoveries emerging from mouse models of autism. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2023;146:105053. DOI 10.1016/j.neubiorev.2023.105053
- DiCarlo G.E., Aguilar J.I., Matthies H.J., Harrison F.E., Bundschuh K.E., West A., Hashemi P., Herborg F., Rickhag M., Chen H., Gether U., Wallace M.T., Galli A. Autism-linked dopamine transporter mutation alters striatal dopamine neurotransmission and dopamine-dependent behaviors. *J. Clin. Invest.* 2019;129(8):3407-3419. DOI 10.1172/JCI127411
- Enticott P.G., Kennedy H.A., Rinehart N.J., Tonge B.J., Bradshaw J.L., Fitzgerald P.B. GABAergic activity in autism spectrum disorders: an investigation of cortical inhibition via transcranial magnetic stimulation. *Neuropharmacology.* 2013;68:202-209. DOI 10.1016/j.neuropharm.2012.06.017
- Fenner B.M. Truncated TrkB: beyond a dominant negative receptor. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2012;23(1-2):15-24. DOI 10.1016/j.cytogfr.2012.01.002
- Finlay B.L., Darlington R.B. Linked regularities in the development and evolution of mammalian brains. *Science.* 1995;268(5217):1578-1584. DOI 10.1126/science.7777856
- Frazier T.W., Hardan A.Y. A meta-analysis of the corpus callosum in autism. *Biol. Psychiatry.* 2009;66(10):935-941. DOI 10.1016/j.biopsych.2009.07.022
- García K.L., Yu.G., Nicolini C., Michalski B., Garzon D.J., Chiu V.S., Tongiorgi E., Szatmari P., Fahnstock M. Altered balance of proteolytic isoforms of pro-brain-derived neurotrophic factor in autism. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2012;71(4):289-297. DOI 10.1097/NEN.0b013e31824b27e4
- Hashem S., Nisar S., Bhat A.A., Yadav S.K., Azeem M.W., Bagga P., Fakhro K., Reddy R., Frenneaux M.P., Haris M. Genetics of structural and functional brain changes in autism spectrum disorder. *Transl. Psychiatry.* 2020;10(1):229. DOI 10.1038/s41398-020-00921-3
- Hettinger J.A., Liu X., Schwartz C.E., Michaelis R.C., Holden J.J. A DRD1 haplotype is associated with risk for autism spectrum disorders in male-only affected sib-pair families. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 2008;147B(5):628-636. DOI 10.1002/ajmg.b.30655
- Ilchibaeva T., Tsybko A., Lipnitskaya M., Eremin D., Milutinovich K., Naumenko V., Popova N. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in mechanisms of autistic-like behavior in BTBR mice: crosstalk with the dopaminergic brain system. *Biomedicines.* 2023;11(5):1482. DOI 10.3390/biomedicines11051482
- Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child.* 1943;2:217-250
- Kemper T.L., Bauman M. Neuropathology of infantile autism. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1998;57(7):645-652. DOI 10.1097/00005072-199807000-00001
- Kondaurova E.M., Plyusnina A.V., Ilchibaeva T.V., Eremin D.V., Rodnyy A.Y., Grygoreva Y.D., Naumenko V.S. Effects of a Cc2d1a/Freud-1 knockdown in the hippocampus on behavior, the serotonin system, and BDNF. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(24):13319. DOI 10.3390/ijms222413319
- Koshimizu H., Kiyosue K., Hara T., Hazama S., Suzuki S., Uegaki K., Nagappan G., Zaitsev E., Hirokawa T., Tatsu Y., Ogura A., Lu B., Kojima M. Multiple functions of precursor BDNF to CNS neurons: negative regulation of neurite growth, spine formation and cell survival. *Mol. Brain.* 2009;2:27. DOI 10.1186/1756-6606-2-27
- Krishnan A., Zhang R., Yao V., Theesfeld C.L., Wong A.K., Tadych A., Volfovsky N., Packer A., Lash A., Troyanskaya O.G. Genome-wide prediction and functional characterization of the genetic basis of autism spectrum disorder. *Nat. Neurosci.* 2016;19(11):1454-1462. DOI 10.1038/nn.4353
- Kulikov A.V., Naumenko V.S., Voronova I.P., Tikhonova M.A., Popova N.K. Quantitative RT-PCR assay of 5-HT1A and 5-HT2A serotonin receptor mRNAs using genomic DNA as an external standard. *J. Neurosci. Methods.* 2005;141(1):97-101. DOI 10.1016/j.jneumeth.2004.06.005
- Küppers E., Beyer C. Dopamine regulates brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression in cultured embryonic mouse striatal cells. *Neuroreport.* 2001;12(6):1175-1179. DOI 10.1097/00001756-200105080-00025
- Lessmann V., Gottmann K., Malcangio M. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog. Neurobiol.* 2003;69(5):341-374. DOI 10.1016/s0301-0082(03)00019-4
- Lindholm P., Saarma M. Cerebral dopamine neurotrophic factor protects and repairs dopamine neurons by novel mechanism. *Mol. Psychiatry.* 2022;27(3):1310-1321. DOI 10.1038/s41380-021-01394-6
- Lindholm P., Voutilainen M.H., Laurén J., Peränen J., Leppänen V.M., Andressoo J.O., Lindahl M., Janhunen S., Kalkkinen N., Timmusk T., Tuominen R.K., Saarma M. Novel neurotrophic factor CDNF protects and rescues midbrain dopamine neurons *in vivo*. *Nature.* 2007;448(7149):73-77. DOI 10.1038/nature05957
- Lindholm P., Peränen J., Andressoo J.O., Kalkkinen N., Kokaia Z., Lindvall O., Timmusk T., Saarma M. MANF is widely expressed in mammalian tissues and differentially regulated after ischemic and epileptic insults in rodent brain. *Mol. Cell. Neurosci.* 2008;39(3):356-371. DOI 10.1016/j.mcn.2008.07.016
- Liu S.H., Shi X.J., Fan F.C., Cheng Y. Peripheral blood neurotrophic factor levels in children with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Sci. Rep.* 2021;11(1):15. DOI 10.1038/s41598-020-79080-w
- Loones M.T., Chang Y., Morange M. The distribution of heat shock proteins in the nervous system of the unstressed mouse embryo suggests a role in neuronal and non-neuronal differentiation. *Cell Stress Chaperones.* 2000;5(4):291-305. DOI 10.1379/1466-1268(2000)005<0291:tdohsp>2.0.co;2
- Lu B., Pang P.T., Woo N.H. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005;6(8):603-614. DOI 10.1038/nrn1726
- Mangale V.S., Hirokawa K.E., Satyaki P.R., Gokulchandran N., Chikbire S., Subramanian L., Shetty A.S., Martynoga B., Paul J.,

- Mai M.V., Li Y., Flanagan L.A., Tole S., Monuki E.S. Lhx2 selector activity specifies cortical identity and suppresses hippocampal organizer fate. *Science*. 2008;319(5861):304-309. DOI 10.1126/science.1151695
- Mariani J., Coppola G., Zhang P., Abyzov A., Provini L., Tomasini L., Amenduni M., Szekeley A., Palejev D., Wilson M., Gerstein M., Grigorenko E.L., Chawarska K., Pelphrey K.A., Howe J.R., Vaccarino F.M. FOXP1-dependent dysregulation of GABA/glutamate neuron differentiation in autism spectrum disorders. *Cell*. 2015;162(2):375-390. DOI 10.1016/j.cell.2015.06.034
- McFarlane H.G., Kusek G.K., Yang M., Phoenix J.L., Bolivar V.J., Crawley J.N. Autism-like behavioral phenotypes in BTBR T+tf/J mice. *Genes Brain Behav*. 2008;7(2):152-163. DOI 10.1111/j.1601-183X.2007.00330.x
- Minshew N.J., Williams D.L. The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization. *Arch. Neurol*. 2007;64(7):945-950. DOI 10.1001/archneur.64.7.945
- Naumenko V.S., Kulikov A.V. Quantitative assay of 5-HT_{1A} receptor gene expression in the brain. *Mol. Biol. (Mosk.)*. 2006;40(1):30-36. DOI 10.1134/S0026893306010067
- Naumenko V.S., Osipova D.V., Kostina E.V., Kulikov A.V. Utilization of a two-standard system in real-time PCR for quantification of gene expression in the brain. *J. Neurosci. Methods*. 2008;170(2):197-203. DOI 10.1016/j.jneumeth.2008.01.008
- Neal M., Cunningham J., Lever I., Pezet S., Malcangio M. Mechanism by which brain-derived neurotrophic factor increases dopamine release from the rabbit retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2003;44(2):791-798. DOI 10.1167/iovs.02-0557
- Nguyen H.T.N., Kato H., Masuda K., Yamaza H., Hirofujii Y., Sato H., Pham T.T.M., Takayama F., Sakai Y., Ohga S., Taguchi T., Nonaka K. Impaired neurite development associated with mitochondrial dysfunction in dopaminergic neurons differentiated from exfoliated deciduous tooth-derived pulp stem cells of children with autism spectrum disorder. *Biochem. Biophys. Rep*. 2018;16:24-31. DOI 10.1016/j.bbrep.2018.09.004
- Palasz E., Wysocka A., Gasiorowska A., Chalimoniuk M., Niewiadomski W., Niewiadomska G. BDNF as a promising therapeutic agent in Parkinson's disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21(3):1170. DOI 10.3390/ijms21031170
- Pavál D. A Dopamine hypothesis of autism spectrum disorder. *Dev. Neurosci*. 2017;39(5):355-360. DOI 10.1159/000478725
- Popolo M., McCarthy D.M., Bhide P.G. Influence of dopamine on precursor cell proliferation and differentiation in the embryonic mouse telencephalon. *Dev. Neurosci*. 2004;26(2-4):229-244. DOI 10.1159/00008214
- Popova N.K., Naumenko V.S. Neuronal and behavioral plasticity: the role of serotonin and BDNF systems tandem. *Expert Opin. Ther. Targets*. 2019;23(3):227-239. DOI 10.1080/14728222.2019.1572747
- Pourhamzeh M., Moravej F.G., Arabi M., Shahriari E., Mehrabi S., Ward R., Ahadi R., Joghataei M.T. The roles of serotonin in neuropsychiatric disorders. *Cell. Mol. Neurobiol*. 2022;42(6):1671-1692. DOI 10.1007/s10571-021-01064-9
- Richards L.J., Plachez C., Ren T. Mechanisms regulating the development of the corpus callosum and its agenesis in mouse and human. *Clin. Genet*. 2004;66(4):276-289. DOI 10.1111/j.1399-0004.2004.00354.x
- Rocheffort N.L., Garaschuk O., Milos R.I., Narushima M., Marandi N., Pichler B., Kovalchuk Y., Konnerth A. Sparsification of neuronal activity in the visual cortex at eye-opening. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009;106(35):15049-15054. DOI 10.1073/pnas.0907660106
- Rodnyy A.Y., Kondaurova E.M., Tsybko A.S., Popova N.K., Kudlay D.A., Naumenko V.S. The brain serotonin system in autism. *Rev. Neurosci*. 2023;35(1):1-20. DOI 10.1515/revneuro-2023-0055
- Sacco R., Gabriele S., Persico A.M. Head circumference and brain size in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res*. 2015;234(2):239-251. DOI 10.1016/j.psychres.2015.08.016
- Satterstrom F.K., Kosmicki J.A., Wang J., Breen M.S., De Rubeis S., An J.Y., Peng M., ... Guerrero E.E., Dias C.; Autism Sequencing Consortium; iPSYCH-Broad Consortium; Betancur C., Cook E.H., Gallagher L., Gill M., Sutcliffe J.S., Thurm A., Zwick M.E., Børglum A.D., State M.W., Cicek A.E., Talkowski M.E., Cutler D.J., Devlin B., Sanders S.J., Roeder K., Daly M.J., Buxbaum J.D. Large-scale exome sequencing study implicates both developmental and functional changes in the neurobiology of autism. *Cell*. 2020;180(3):568-584.e23. DOI 10.1016/j.cell.2019.12.036
- Segura M., Pedreño C., Obiols J., Taurines R., Pamias M., Grünblatt E., Gella A. Neurotrophin blood-based gene expression and social cognition analysis in patients with autism spectrum disorder. *Neurogenetics*. 2015;16(2):123-131. DOI 10.1007/s10048-014-0434-9
- Staal W.G., Langen M., van Dijk S., Mensen V.T., Durston S. *DRD3* gene and striatum in autism spectrum disorder. *Br. J. Psychiatry*. 2015;206(5):431-432. DOI 10.1192/bjp.bp.114.148973
- Teng H.K., Teng K.K., Lee R., Wright S., Tevar S., Almeida R.D., Kermani P., Torkin R., Chen Z.Y., Lee F.S., Kraemer R.T., Nykjaer A., Hempstead B.L. ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin. *J. Neurosci*. 2005;25(22):5455-5463. DOI 10.1523/JNEUROSCI.5123-04.2005
- Voutilainen M.H., Bäck S., Peränen J., Lindholm P., Raasmaja A., Männistö P.T., Saarna M., Tuominen R.K. Chronic infusion of CDNF prevents 6-OHDA-induced deficits in a rat model of Parkinson's disease. *Exp. Neurol*. 2011;228(1):99-108. DOI 10.1016/j.expneurol.2010.12.013
- Wambach C.M., Patel S.N., Kahn D.A. Maternal and fetal factors that contribute to the localization of T regulatory cells during pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol*. 2014;71(5):391-400. DOI 10.1111/aji.12223
- Wei H., Alberts I., Li X. The apoptotic perspective of autism. *Int. J. Dev. Neurosci*. 2014;36:13-18. DOI 10.1016/j.ijdevneu.2014.04.004
- Yang J., Siao C.J., Nagappan G., Marinic T., Jing D., McGrath K., Chen Z.Y., Mark W., Tessarollo L., Lee F.S., Lu B., Hempstead B.L. Neuronal release of proBDNF. *Nat. Neurosci*. 2009;12(2):113-115. DOI 10.1038/nn.2244
- Yoo H.J., Cho I.H., Park M., Yang S.Y., Kim S.A. Association of the catechol-o-methyltransferase gene polymorphisms with Korean autism spectrum disorders. *J. Korean Med. Sci*. 2013;28(9):1403-1406. DOI 10.3346/jkms.2013.28.9.1403

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 31.01.2024. После доработки 11.03.2024. Принята к публикации 12.03.2024.