
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ,
НОКАУТИРОВАННЫХ ПО РЕЦЕПТОРУ TAAR1, В ТЕСТАХ,
ОЦЕНИВАЮЩИХ ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОЕ СОСТОЯНИЕ**

© 2025 г. Е. П. Виноградова¹, А. Ю. Александров¹, Д. В. Беляков¹,
Е. С. Дмитриева¹, Л. Н. Станкевич¹, А. А. Александров¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
*E-mail: e.vinogradova@spbu.ru

Поступила в редакцию 12.05.2025 г.

После доработки 05.06.2025 г.

Принята к публикации 06.06.2025 г.

Целью исследования было изучение функциональной роли рецептора TAAR1 в формировании поведенческого компонента стрессорного ответа. Поведение мышей с нокаутом по TAAR1 и мышей дикого типа (WT) изучали в тестах, отражающих депрессивно подобное состояние до и после окончания действия хронического стресса (модель стресса “запах хищника” (predator stress)), а также отсроченные изменения в поведении спустя 6 недель. В тесте подвешивания за хвост и тесте принудительного плавания по Порсолту между группами TAAR1–KO и WT нет отличий по показателям депрессивно подобного поведения как в норме, так и после хронического стрессорного воздействия. Однако мыши TAAR1–KO, попадая в начале тестирования в стрессорную ситуацию, демонстрируют двигательную гиперактивность, что приводит к резкому увеличению латентных периодов первой иммобилизации в обоих тестах. Нокаут рецептора TAAR1 не влияет на признаки депрессивно подобного поведения, однако приводит к характерному повышению уровня двигательной активности. Мыши TAAR1–KO продемонстрировали более выраженную реакцию на хроническое стрессорное воздействие, набор массы тела после окончания действия стрессора у них происходил значительно медленнее, чем у мышей WT, так что в течение 5 последних недель масса тела животных TAAR1–KO была достоверно меньше, чем у мышей дикого типа. Обнаружено, что через 6 недель после окончания стрессорного воздействия показатели депрессивно подобного состояния у мышей TAAR1–KO и WT продолжают увеличиваться.

Ключевые слова: нокауты TAAR1–KO, тест подвешивания за хвост, тест Порсолта, хронический стресс “запах хищника”, депрессивноподобное состояние, стресс-индуцированная гипертермия

DOI: 10.7868/S2658655X25070122, **EDN:** MVYRLA

ВВЕДЕНИЕ

Хронический стресс – один из важнейших факторов, вызывающих депрессивноподобные расстройства, сопровождающиеся нарушением эмоциональных, когнитивных и моторных функций как сразу после окончания действия негативных факторов внешней среды, так и впоследствии, спустя определенное время.

Дисбаланс нейромедиаторных систем, таких как дофамин, серотонин и норадреналин, может способствовать развитию депрессивных симптомов [1]. Следовые амины, группа аминов, присутствующих в мозге млекопитающих в наномолярных количествах, могут модулировать передачу моноаминов. Открытие и функциональные исследования рецепторов, связанных со следовыми аминами (TAAR), особенно наиболее изученного TAAR1, во многом способствовали пониманию функций системы следовых аминов в мозге [2]. TAAR1 экспрессируется в мозге млекопитающих на низком уровне и широко распространен в моноаминергической системе, в том числе в вентральной области покрышки и черной субстанции, где в мозге млекопитающих находятся дофаминергические нейроны, особенно широко в лимбических и моноаминергических областях, предположительно участвующих в формировании настроения, внимания, памяти, страха и зависимости [3]. Растущее количество данных, полученных *in vitro* и *in vivo*, свидетельствует о том, что TAAR1 может модулировать моноаминергическую передачу и, как следствие, играть важную роль в формировании многих психических расстройств, включая шизофрению, расстройства, связанные с употреблением психоактивных веществ, нарушения сна, депрессию и тревожность [4]. Рецепторы TAAR1, влияя на активность моноаминергических нейромедиаторных систем и соответственно на психоэмоциональные состояния, могут существенно влиять на динамику и уровень данных нейромедиаторов, способствующих изменению эмоционального состояния пациентов с депрессией.

Ранее нами было показано, что у мышей TAAR1 и мышей WT после действия неконтролируемого острого стресса иммобилизации поведенческий компонент стрессорного ответа существенным образом отличается: у мышей TAAR1-KO было обнаружено отсутствие раннего (через 30 мин после стресса) поведенческого ответа на данное стрессорное воздействие, в то время как через 3 недели после стресса животные обеих групп демонстрировали сходные существенные изменения по уровню тревожности и депрессивно подобного поведения [5]. В связи с этим представляется важным сравнить у мышей TAAR1-KO и WT особенности поведенческого стрессорного ответа и возможного развития депрессивно подобных состояний в модели хронического стрессорного воздействия.

Модели депрессии на животных служат основой для исследования как биологических, так и психологических аспектов данного расстройства, а также для тестирования фармакологических и немедикаментозных подходов к лечению. При этом моделирование депрессии человека на животных моделях является сложной задачей, учитывая разнообразную природу многочисленных физиологических и психологических симптомов [6]. Несмотря на то что полногеномные ассоциативные исследования на людях не выявили аллели риска [7], связанные с большим депрессивным расстройством, очевидно, что существуют генетические факторы, которые влияют на чувствительность к стрессу [8]. Изучение депрессии на животных моделях представляет собой важную область в психиатрии и нейробиологии, направленную на понимание патогенеза этого состояния и разработку новых методов терапии.

В настоящее время существует несколько моделей формирования депрессивноподобных состояний у грызунов: хронический иммобилизационный стресс [9], хронический умеренный неконтролируемый стресс [10], хронический стресс социальных поражений [11] и др. Все существующие модели обладают разными достоинствами и недостатками.

Использование хищников и/или запаха хищников в качестве стрессорных факторов является распространенной моделью для изучения развития стрессорного ответа [12]. Известно, что экспозиция мочи хищника приводит к повышению уровня гормонов стресса [13]. Показано, что данная модель стрессорного воздействия может приводить к формированию депрессивноподобного состояния [14]. Известно, что запах хищника (кошки) вызывает у грызунов не только первичные реакции (борьба, бегство,

затаивание), но и вторичные индуцированные изменения [15, 16], в частности, показано, что экспонирование мочи домашней кошки оказывает существенное влияние на репродуктивную функцию грызунов [17], на долговременную пространственную память и плотность шипиков на базальных дендритах нейронов CA1 [18] и вызывает ряд других долгосрочных изменений поведения, физиологии и нейрофизиологии. Поведенческие эксперименты показывают, что мыши, подвергшиеся воздействию запаха хищника, могут демонстрировать уменьшение активности, снижение интереса к исследованию окружающей среды [19] и развитие ангедонии, что является ключевым компонентом депрессивных состояний.

Целью данной работы было изучение влияния хронического стрессорного воздействия на развитие поведенческого компонента стрессорного ответа у мышей TAAR1-KO и мышей WT через 5 дней после окончания процедуры стрессирования и через 6 недель после ее окончания в тестах, оценивающих депрессивноподобное состояние.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования. Исследование проводили на самцах мышей TAAR1-KO ($n = 10$), в качестве контроля использовались самцы дикого типа WT ($n = 10$). Исходными для линий WT и TAAR1-KO являлись мыши линий 129S1/Sv и C57BL/6. Животные были получены из Ресурсного центра вивария Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета в возрасте 3.5 месяца. Средняя масса тела животных в начале эксперимента составляла 26.7 ± 0.3 г для TAAR1-KO и 27.2 ± 0.5 г для мышей WT. Процедуру взвешивания проводили раз в неделю с 12:00 до 13:00. Все животные содержались в стандартных условиях при доступе к пище и воде *ad libitum*, в помещении поддерживался 12-часовой цикл “свет – темнота”. Животные размещались в одиночных пластиковых прозрачных боксах с перфорированными стенками ($30 \times 15 \times 17$ см). До начала проведения работ животные находились в лаборатории 20 дней и подвергались процедуре хэндлинга, чтобы предотвратить возникновение стрессорной реакции на взятие в руки во время проведения эксперимента.

Тест подвешивания за хвост (Tail suspension test) проводили в установке, стенки которой были выполнены из красного органического стекла, размер установки составлял $20 \times 40 \times 60$ см по общепринятой методике [20]. Мышь находилась на расстоянии 150 мм от стенок камеры. Каждую мышь подвешивали за хвост на высоте 60 см над полом камеры с помощью клейкой ленты, расположенной на расстоянии менее 1 см от кончика хвоста. Длительность теста составляла 5 мин. На хвост надевали пластиковый цилиндр длиной 2.5 см для предотвращения попыток вылезти по собственному хвосту. Регистрация поведения осуществлялась с помощью системы видеозаписи. Поведение мышей было проанализировано двумя независимыми наблюдателями по видеозаписи для определения следующих параметров: количество эпизодов неподвижности, общая продолжительность неподвижности, латентный период (ЛП) первой иммобилизации, количество болюсов.

Тест Порсолта. В качестве модели депрессивноподобного поведения использовался тест принудительного плавания в соответствии с существующими протоколами [21, 22]. Установка представляла собой стеклянный цилиндр диаметром 20 см при высоте 45 см. Цилиндр заполняли водой (температура $23\text{--}25$ °C) на высоту 20 см так, чтобы помещенное в него животное плавало и при этом не имело возможности выбраться из цилиндра. Длительность тестирования составляла 6 мин. Регистрировали общую длительность неподвижности животного, количество актов иммобилизации, ЛП первой иммобилизации, количество болюсов.

Каждый поведенческий тест проводили в течение одного дня на всех животных с 13:00 до 17:00 ч. Исследуемое поведение во всех опытах фиксировалось на видеокамеру.

Процедура стрессорного воздействия. В качестве хронического стрессорного воздействия использовали модель стресса “запах хищника” (predator stress). В нашем исследовании в качестве запаха хищника использовали свежую кошачью мочу от кота, находящегося на белковой диете. Было проведено 10 сеансов экспозиции запаха хищника. Установка для экспозиции запаха представляла из себя камеру с основанием размером 42 x 42 см и высотой 70 см. Все 4 угла камеры были отделены прозрачными перегородками, куда помещали мышей, перегородка не доходила до основания камеры на 2 мм для свободной циркуляции воздуха и запаха хищника. В каждый угол камеры помещали одну мышь, всего за одну сессию в камеру высаживали четырех животных. Животные могли видеть и слышать друг друга, но не имели возможности физического контакта. В середину установки помещалась емкость с опилками с запахом хищника. Экспозиция “запах хищника” длилась 15 мин, затем животных вынимали и возвращали в их индивидуальные клетки.

Оценка “стресс-индуцированной гипертермии”. В течение всего периода проведения экспериментов у животных каждый день с 12:00 до 13:00 ч измеряли температуру бесконтактным методом с помощью инфракрасного термометра для измерения температуры у грызунов (RAK F103) в области шеи с вентральной поверхности. В период хронического стрессирования измерение температуры осуществляли ежедневно до и после воздействия стрессора.

Порядок тестирования. После окончания процедуры хэндлирования (20 дней) проводили оценку поведения мышей в тесте подвешивания за хвост, а на следующий день в тесте Порсолта. После этого все животные подвергались процедуре хронического стрессорного воздействия. Через 5 дней после окончания процедуры стрессирования (1-й тест после стресса) животных тестировали в поведенческих тестах в том же порядке. Через 6 недель проводили еще раз тест подвешивания за хвост и тест Порсолта (2-й тест после стресса).

Статистика. В связи с тем, что распределения исследуемых величин имеют ряд особенностей, исключающих их нормальность, статистический анализ полученных данных и оценку достоверности различий осуществляли с помощью непараметрических методов. При межгрупповых сравнениях использовался U-критерий Манна – Уитни. Для оценки эффективности применяемого стрессорного воздействия применялся парный T-критерий Вилкоксона для связанных выборок (в программе Graph Pad Prism 8). В качестве критического уровня значимости принималось $\alpha = 0.05$. Результаты представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты измерения температуры

Достоверных различий между мышами TAAR1 – KO и WT по величине фоновой температуры (вне периода экспериментальных сессий) до и после хронического стрессирования не обнаружено.

Стресс-вызванная гипертермия. Измерение температуры в период хронического стрессирования до и через 20 мин после окончания сеанса стрессирования (всего было 10 сеансов экспозиции запаха хищника) показало, что в обеих группах наблюдалась стресс-вызванная гипертермия. Двухфакторный дисперсионный анализ (факторы: тип животного TAAR1–KO и WT, стресс “до и после стресса”) показал, что фактор “стресс” имеет достоверные значения $F(1) = 9.425$, $p = 0.018$. Попарные сравнения

показали статистически значимое увеличение температуры: для мышей TAAR1-KO с 36.0 ± 0.09 до 36.2 ± 0.06 ($p = 0.037$) и для мышей WT с 35.9 ± 0.07 до 36.1 ± 0.1 ($p = 0.027$), (рис. 1).

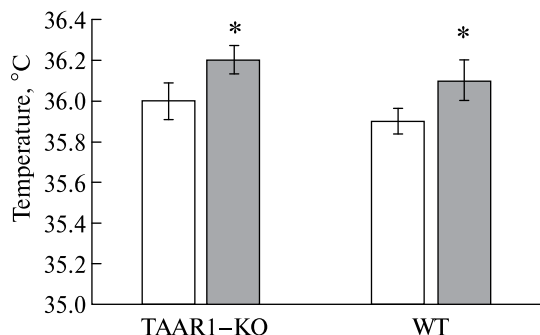


Рис. 1. Изменение температуры в ходе сеансов стрессирования. Суммарные данные по 10 сеансам действия стрессора. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$). Светлые столбики – температура мышей до процедуры стрессирования, темные столбики – температура мышей через 20 мин после сеанса стрессирования. По вертикали – температура в градусах Цельсия. * – Статистически значимые отличия $p < 0.05$.

Измерение массы и температуры животных показало высокую эффективность процедуры стрессирования. В течение всего времени воздействия масса тела животных падала, и наблюдалась хорошо выраженная стресс-вызванная гипертермия.

Оценка прироста массы тела. Известно, что у грызунов в течение жизни наблюдается постепенный прирост массы тела. До начала стрессорного воздействия мыши TAAR1-KO и мыши WT не различались по массе тела (26.7 ± 0.3 г и 27.2 ± 0.5 г соответственно). После начала стрессорного воздействия масса тела начала снижаться у мышей в обеих группах, и к последнему дню стрессорного воздействия масса тела животных в обеих группах уменьшилась статистически значимо ($p < 0.01$) и составила 26.5 ± 0.2 г для TAAR1-KO и 26.9 ± 0.3 г для WT (рис. 2).

После окончания стрессорного воздействия масса тела начала немедленно восстанавливаться у всех животных. Однако набор массы у мышей WT происходил быстрее, чем у мышей TAAR1-KO (рис. 2). Эти различия в дальнейшем прогрессировали, и через 3 недели после окончания стрессирования появились достоверные различия массы тела у мышей TAAR1-KO по сравнению с диким типом (27.4 ± 0.2 г и 28.8 ± 0.2 г соответственно ($p < 0.01$)). Эти различия сохранялись в течение последующих 5 недель (27.4 ± 0.3 г и 29.1 ± 0.2 г), (рис. 2).

Мыши TAAR1-KO продемонстрировали более выраженную долгосрочную реакцию на хроническое стрессорное воздействие, и набор массы тела у них происходил значительно медленнее, чем у мышей WT, так что в течение всех 5 последних недель масса TAAR1-KO была достоверно меньше, чем у мышей дикого типа, это может указывать на выраженные отдаленные последствия хронического стресса у мышей TAAR1-KO.

В тесте подвешивания за хвост до начала стрессорного воздействия в поведении мышей TAAR1-KO и мышей WT не наблюдалось различий по показателям общей длительности иммобилизации, количеству иммобилизаций за весь период тестирования, количеству болюсов у животных обеих групп. Статистически значимые различия наблюдались только по величине латентного периода (ЛП) первой иммобилизации, который был достоверно длиннее у мышей нокаутов ($p < 0.05$) (рис. 3а).

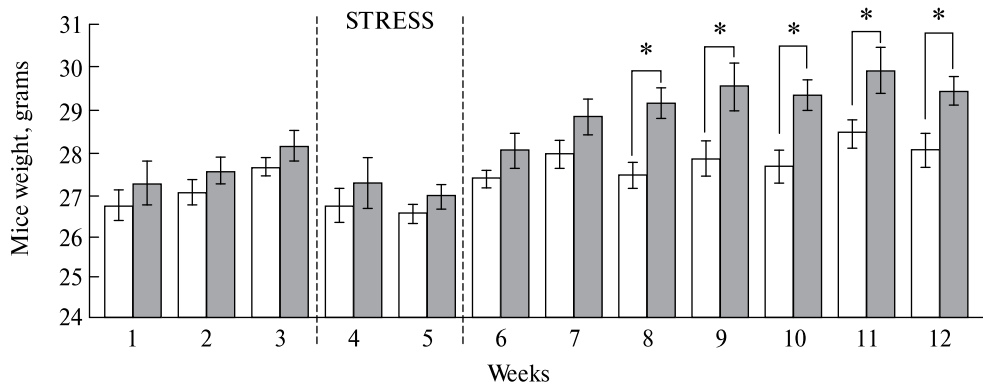


Рис. 2. Изменения массы тела у мышей TAAR1-KO и мышей WT.

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$). По горизонтали – недели, по вертикали – масса тела в граммах (г). Белые столбики – мыши TAAR1-KO, темные столбики – мыши WT. * $p < 0.01$, межгрупповые сравнения.

В первом тестировании через 5 дней после окончания действия хронического стрессора в обеих группах произошло существенное увеличение длительности иммобилизации за первую минуту тестирования, которая увеличилась у TAAR1-KO с 3.1 ± 1.2 до 14.2 ± 2.8 с ($p < 0.01$), у мышей WT с 5.8 ± 1.8 до 18.0 ± 3.9 с ($p < 0.01$). Статистически значимо возросла общая длительность иммобилизации за весь период тестирования: у мышей TAAR1-KO с 117.7 ± 20.1 до 179.4 ± 9.2 с ($p < 0.01$), у мышей дикого типа длительность увеличилась недостоверно и составила 185.5 ± 13.9 с ($p = 0.054$) (рис. 3b). Было показано статистически значимое снижение ЛП первой иммобилизации в обеих группах (рис. 3a). У мышей TAAR1-KO ЛП снизился с 80.8 ± 25.0 до 24.5 ± 4.7 с, у мышей WT – с 36.3 ± 6.7 до 17.3 ± 4.3 с ($p < 0.05$). Существенное уменьшение ЛП первой иммобилизации у мышей TAAR1-KO нивелировало различие между мышами обеих групп в величине ЛП, которое регистрировалось до начала стрессорного воздействия. Из-за того что у мышей TAAR1-KO под влиянием действия стрессора ЛП уменьшился значительно сильнее по сравнению с диким типом, достоверные отличия между группами исчезли. Таким образом, через 5 дней после стрессорного воздействия у мышей TAAR1-KO изменились показатели депрессивно подобного поведения (уменьшился ЛП иммобилизации, увеличилась длительность иммобилизаций за первую минуту и увеличилась общая длительность иммобилизации). Такое изменение этих показателей трактуется как усиление депрессивноподобного поведения под влиянием хронического стресса. При втором тестировании после окончания стрессорного воздействия (спустя 6 недель после стресса) у мышей TAAR1-KO наблюдалось дальнейшее увеличение общей длительности неподвижности, которая составила 213.0 ± 10.9 с ($p < 0.001$ по сравнению с данными до стресса) и сократился ЛП первой неподвижности до 14.2 ± 2.1 с ($p < 0.0001$ по сравнению с данными до стресса). У мышей WT снизился ЛП первой неподвижности до 11.5 ± 1.8 с ($p < 0.01$) и статистически значимо ($p < 0.001$) увеличилась длительность неподвижности, которая составила 203.4 ± 7.3 с (рис. 3).

В тесте Порсолта до начала стрессорного воздействия общая длительность иммобилизации (92.0 ± 15.5 с для группы TAAR1-KO, 106.0 ± 13.1 с для группы WT) и количество актов иммобилизации (19.3 ± 1.5 для группы TAAR1-KO и 18.1 ± 1.9 для группы WT) статистически значимо не отличались. Различие в поведении мышей TAAR1-KO и мышей WT наблюдалось по величине ЛП первой иммобилизации (рис. 4a), который был достоверно длиннее у мышей TAAR1-KO (60.0 ± 6.0 с) по сравнению с мышами

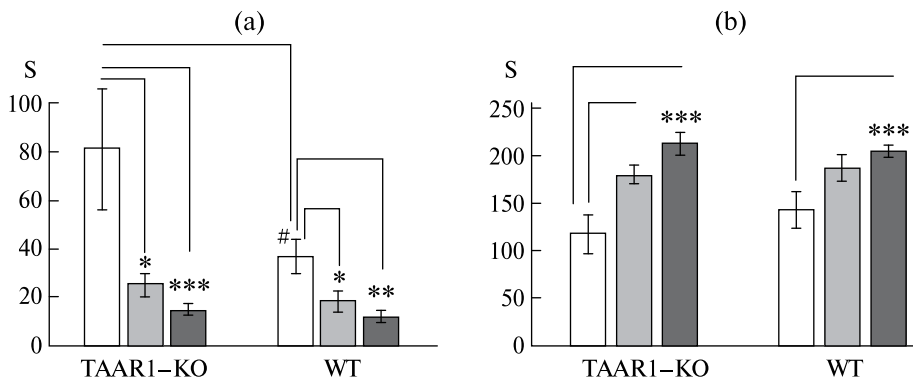


Рис. 3. Поведение мышей TAAR1-KO и мышей WT в тесте подвешивания за хвост. (а) – Латентный период первой иммобилизации в секундах (s). (б) – Длительность иммобилизации за весь тест в секундах (s). Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$). Белые столбики – данные до стресса, серые столбики – через 5 дней после стресса, черные столбики – через 6 недель после стресса. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ внутригрупповые сравнения до и после стресса, # $p < 0.05$, межгрупповые сравнения TAAR1-KO и мышей WT.

WT (42.4 ± 5.8 с) ($p < 0.05$), и длительности иммобилизации на первой минуте тестирования, которая была выше у мышей дикого типа (2.2 ± 0.8 и 4.8 ± 1.2 с соответственно, $p < 0.01$).

В первом тестировании через 6 дней после окончания действия стрессора не наблюдалось изменений количества актов иммобилизации у животных обеих групп. Было показано статистически значимое снижение ЛП первой иммобилизации в обеих группах. У TAAR1-KO ЛП снизился до 10.6 ± 1.9 с ($p < 0.01$), у мышей WT до 5.2 ± 1.6 с ($p < 0.01$) (рис. 4а). Общая длительность иммобилизации увеличилась у мышей-нокаутов до 127.2 ± 14.9 с ($p < 0.01$) и у мышей дикого типа до 154.8 ± 16.2 с ($p < 0.01$) (рис. 4б). Значительно более существенное уменьшение ЛП первой иммобилизации у мышей TAAR1-KO нивелировало различие в величине ЛП, которое регистрировалось до начала стрессорного воздействия.

Также в обеих группах произошло существенное увеличение длительности иммобилизации за первую минуту тестирования, которая увеличилась у TAAR1-KO с 2.2 ± 0.8 до 12.9 ± 3.9 с ($p < 0.01$), у мышей WT – с 4.8 ± 1.2 до 32.2 ± 4.2 с ($p = 0.01$) по сравнению с данными, полученными до стресса.

При втором тестировании (спустя 6 недель) после окончания хронического стрессорного воздействия у мышей TAAR1-KO и мышей WT наблюдалось статистически значимое увеличение общей длительности иммобилизаций по сравнению с данными до стресса (142.4 ± 29.9 и 193.0 ± 13.3 с соответственно ($p < 0.01$)). Изменение ЛП первой иммобилизации было различным. У мышей WT этот показатель статистически значимо не изменился (11.1 ± 2.0 с) по сравнению с данными, полученными в первом тесте после стресса, и оставался статистически значимо ниже, чем до стресса ($p < 0.001$), в то время как у мышей TAAR1-KO ЛП достоверно увеличился до 38.6 ± 12.4 с по сравнению с данными, полученными через 6 дней после окончания стрессорного воздействия ($p < 0.01$), но оставался статистически значимо меньше, чем до начала стресса ($p < 0.01$). При этом восстановились межгрупповые различия, которые наблюдались до начала стресса ($p < 0.01$). Кроме того, у мышей дикого типа увеличилось общее количество актов иммобилизаций (26.4 ± 1.5) по сравнению с данными, полученными до стресса (18.1 ± 1.9 , $p < 0.01$).

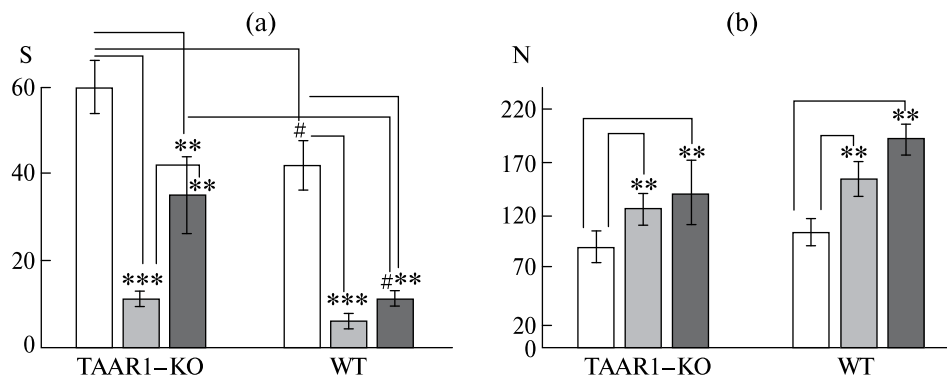


Рис. 4. Поведение мышей TAAR1-KO и мышей WT в тесте Порсолта. (a) – Латентный период первой иммобилизации в секундах (s). (b) – Длительность иммобилизации за весь тест в секундах (s). Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$). Белые столбики – данные до стресса, серые столбики через 6 дней после стресса, черные столбики – через 6 недель после стресса. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ – внутригрупповые сравнения до и после стресса, # $p < 0.05$ – межгрупповые сравнения TAAR1-KO и мышей WT.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для оценки эффективности использования модели “запах хищника” в качестве способа создания хронического неконтролируемого стресса большое значение имеет регулярное измерение массы тела и температуры животных. Измерение температуры животных показало высокую эффективность процедуры стрессирования в равной мере в обеих группах мышей, стресс-вызванная гипертермия наблюдалась и у мышей TAAR1-KO, и у мышей WT, что согласуется с данными литературы по стресс-индуцированной гипертермии у грызунов [23, 24].

Изменение массы тела в течение всего времени стрессорного воздействия было сходным: масса тела падала у всех животных. Однако мыши TAAR1-KO продемонстрировали более выраженную реакцию на хроническое стрессорное воздействие, и набор массы тела после окончания действия стрессора у них происходил значительно медленнее, чем у мышей WT, так что в течение 5 последних недель масса тела мышей TAAR1-KO была достоверно меньше, чем у мышей дикого типа, это указывает на более выраженные отдаленные последствия хронического стресса у мышей TAAR1-KO.

В целом измерение массы тела и температуры животных показало высокую эффективность процедуры стрессирования, в течение всего времени воздействия масса тела животных падала и наблюдалась хорошо выраженная стресс-вызванная гипертермия. Важно, что у мышей TAAR1-KO была обнаружена более выраженная потеря массы под влиянием стресса по сравнению с группой WT.

Основной показатель для оценки депрессивноподобного поведения в тесте подвешивания за хвост – длительность иммобилизации в норме до стресса – не отличался у мышей TAAR1-KO и мышей WT, в то время как ЛП первой реакции иммобилизации у нокауты был значительно длиннее. Это согласуется с результатами, показанными нами ранее [25]. Таким образом, нокаут рецептора TAAR1 не влияет на признаки депрессивно подобного поведения, однако приводит к характерному повышению уровня двигательной активности.

После окончания действия хронического стресса в тесте подвешивания за хвост было показано статистически значимое снижение ЛП первой иммобилизации в обеих группах, причем в группе TAAR1-KO это снижение было настолько выраженным,

что в результате полностью снимало изначальные межгрупповые различия, связанные с повышением двигательной активности в результате нокаутирования рецептора TAAR1.

У мышей TAAR1-KO произошло увеличение общей длительности иммобилизации, что указывает на усиление признаков депрессивноподобного поведения в результате воздействия хронического стресса. У мышей WT также наблюдалось увеличение общей длительности иммобилизации, статистически маргинальное ($p = 0.054$). При тестировании через 6 недель после окончания стрессорного воздействия отмечено дальнейшее усиление признаков депрессивноподобного поведения (увеличение общей длительности иммобилизации и укорочение ЛП первой иммобилизации) и у мышей TAAR1-KO, и у мышей WT. Усиление отсроченных эффектов стрессорного воздействия для этих групп продемонстрировано впервые.

Исходно в тесте Порсолта длительность иммобилизации не отличалась у мышей TAAR1-KO и WT, в то же время наблюдались достоверные отличия по ЛП иммобилизации. В целом эти различия практически воспроизводят картину, полученную при экспериментах в тесте подвешивания за хвост: при одинаково выраженных признаках депрессивного состояния мыши TAAR1-KO демонстрируют повышенный уровень двигательной активности в начале эксперимента. После стресса в обеих группах происходят заметное увеличение длительности иммобилизации и укорочение ЛП иммобилизации, причем у мышей TAAR1-KO последний показатель падает настолько сильно, что исходные межгрупповые различия исчезают. При проверке отдаленных эффектов стрессирования спустя 6 недель, так же как и в тесте подвешивания за хвост, обнаружено дальнейшее повышение длительности иммобилизации. В то же время показатель ЛП первой иммобилизации явно начинает восстанавливаться и увеличивается в обеих группах, приближаясь к исходным значениям. При этом увеличение для TAAR1-KO настолько выражено, что снова появляются достоверные отличия по этому параметру между группами TAAR1-KO и WT.

В целом, по результатам обоих тестов, можно сделать вывод, что между группами TAAR1-KO и WT нет отличий по показателям депрессивно подобного поведения – как в норме, так и после хронического стрессорного воздействия. Однако мыши TAAR1-KO, попадая в начале тестирования в стрессорную ситуацию, демонстрируют характерное повышение двигательной активности, что приводит к резкому увеличению ЛП иммобилизации в обоих тестах по сравнению с мышами WT.

О влиянии рецепторов TAAR1 на уровень двигательной активности животных имеются сведения в литературе. Линия спонтанно гипертензивных крыс (линия SHR) считается одной из наиболее валидных моделей синдрома дефицита внимания и гиперактивности. Для поведения этих крыс характерны гиперактивность, импульсивность и нарушения внимания [26]. Обнаружено, что у крыс SHR значительно снижен уровень рецепторов TAAR1 в префронтальной коре, стриатуме и гиппокампе. Внутривенное введение агониста TAAR1 спонтанно гипертензивным крысам приводило к снижению двигательной гиперактивности (тест открытое поле) [27]. Похожие результаты были получены на мышах на другой модели синдрома дефицита внимания и гиперактивности – с нокаутированием дофаминового транспортера [28]. Было обнаружено, что введение селективных агонистов TAAR1 снижает на этой модели локомоторную активность, а дополнительное нокаутирование рецепторов TAAR1, наоборот, приводит к усилению двигательной активности [29]. Наши результаты указывают, что нокаутирование рецепторов TAAR1 приводит к выраженной гиперактивности при попадании животных в стрессорную ситуацию.

В данной работе впервые показано, что у мышей TAAR1-KO и WT наблюдаются отсроченные эффекты хронического стрессорного воздействия – показатели депрессивноподобного поведения продолжают усиливаться в течение 6 недель после окончания стрессорного воздействия. Несмотря на некоторые общие черты стрессорного

ответа в двух группах, можно наблюдать специфику развития реакции на хронический стресс у мышей, нокаутированных по TAAR1: через 5–6 дней после стресса показатели депрессивноподобного состояния изменяются более выражено, чем у мышей WT, в обоих тестах, также у них влияние стресса на физиологические показатели (масса тела) оказывается более сильным в течение длительного времени.

БЛАГОДАРНОСТИ

Благодарим виварий Ресурсного центра Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета за предоставление генно-модифицированных животных.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (А. А. А., Е. П. В.), сбор данных (Е. П. В., Д. В. Б., Е. С. Д., Л. Н. С.), обработка данных (А. Ю. А., Е. П. В.), написание и редактирование манускрипта (А. А. А., Е. П. В., Л. Н. С.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 24-25-00057).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все проводимые процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации, международным нормам по проведению медико-биологических исследований с использованием животных [30] и рекомендациям Этического комитета биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета (протокол № 131-03-2 от 13 марта 2024 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kemp J, Lickel J, Deacon B* (2014) Effects of a chemical imbalance causal explanation on individuals' perceptions of their depressive symptoms. *Behav Res Ther* 56: 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2014.02.009>
2. *Gainetdinov R, Hoener M, Berry M* (2018) Trace Amines and Their Receptors. *Pharmacol Rev* 70(3): 549–620. <https://doi.org/10.1124/pr.117.015305>
3. *Rutigliano G, Accorroni A, Zucchi R* (2018) The case for TAAR1 as a modulator of central nervous system function. *Front Pharmacol* 8: 987. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00987>
4. *Rutigliano G, Zucchi R* (2020) Molecular Variants in Human Trace Amine-Associated Receptors and Their Implications in Mental and Metabolic Disorders. *Cell Mol Neurobiol* 40(2): 239–255. <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00743-y>
5. *Виноградова ЕП, Симон ЮА, Александров АЮ, Князева ВМ, Станкевич ЛН, Козырева АВ, Александров АА* (2023) У самок мышей нокаутов по гену TAAR1 отсутствует ранний поведенческий ответ на острый иммобилизационный стресс. *Росс физиол журн им ИМ Сеченова* 109(11): 1650–1664. [*Vinogradova E, Simon Yu, Aleksandrov A, Stankevich L, Knyazeva V, Aleksandrov A* (2023) Mice Lacking TAAR1 Show No Early Behavioral Response to Acute Restraint Stress 109(11): 1650–1664. (In Russ)] / <https://doi.org/10.31857/S0869813923110122>

6. Nestler E, Hyman S (2010) Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci* 13(10): 1161–1169.
<https://doi.org/10.1038/nn.2647>
7. Ménard C, Hodes G, Russo S (2016) Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies. *Neuroscience* 321: 138–162.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.053>
8. Flint J, Kendler K (2014) The genetics of major depression. *Neuron* 81(3): 484–503.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.01.027>
9. Cheng Y, Rodriguiz R, Murthy S, Senatorov V, Thouenon E, Cawley N, Aryal D, Ahn S, Lecka-Czernik B, Wetsel W, Loh Y (2015) Neurotrophic factor- $\alpha 1$ prevents stress-induced depression through enhancement of neurogenesis and is activated by rosiglitazone. *Mol Psychiatry* 20: 744–754.
<https://doi.org/10.1038/mp.2014.136>
10. Jung Y, Hong S, Ma S, Hwang J, Kim J, Lee J, Seo J, Lee S, Jang C (2014) Strain differences in the chronic mild stress animal model of depression and anxiety in mice. *Biomol Ther (Seoul)* 22(5): 453–459.
<https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.058>
11. Kudryavtseva N, Bakshtanovskaya I, Koryakina L (1991) Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacol Biochem Behav* 38(2): 315–320.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90284-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90284-9)
12. Kigar S, Cuarenta A, Zuniga C, Chang L, Auger A, Bakshi V (2024) Brain, behavior, and physiological changes associated with predator stress-An animal model for trauma exposure in adult and neonatal rats. *Front Mol Neurosci* 29(17): 1322273.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2024.1322273>
13. Rajbhandari A, Baldo B, Bakshi V (2015) Predator stress-induced CRF release causes enduring sensitization of basolateral amygdala norepinephrine systems that promote PTSD-like startle abnormalities. *J Neurosci* 35: 14270–14285.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5080-14.2015>
14. Tseng Y, Zhao B, Ding H, Liang L, Schaeffe B, Wang L (2023) Systematic evaluation of a predator stress model of depression in mice using a hierarchical 3D-motion learning framework. *Transl Psychiatry* 13(1): 178.
<https://doi.org/10.1038/s41398-023-02481-8>
15. Figueiredo H, Bodie B, Tauchi M, Dolgas C, Herman J (2003) Stress integration after acute and chronic predator stress: differential activation of central stress circuitry and sensitization of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology* 144: 5249–5258.
<https://doi.org/10.1210/en.2003-0713>
16. Belzung C, El Hage W, Moindrot N, Griebel G (2001) Behavioral and neurochemical changes following predatory stress in mice. *Neuropharmacology* 41: 400–408.
[https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(01\)00072-7](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(01)00072-7)
17. Маланьина Т (2013) Химические сигналы хищника провоцируют хронический эмоциональный стресс у домашних мышей. *Совр пробл науки образов* 1: 337. [Malanina T (2013) Predator chemical signals induced chronic emotional stress in house mouse. *Modern Probl Sci Educ*: 337. (In Russ)].
18. Diamond D, Campbell A, Park C, Woodson J, Conrad C, Bachstetter A, Mervis R (2006) Influence of predator stress on the consolidation versus retrieval of long-term spatial memory and hippocampal spinogenesis. *Hippocampus* 16: 571–576.
<https://doi.org/10.1002/hipo.20188>
19. Morrow B, Redmond A, Roth R, Elsworth J (2000) The predator odor, TMT, displays a unique, stress-like pattern of dopaminergic and endocrinological activation in the rat. *Brain Res* 864(1): 146–151.
[https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)02174-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)02174-0)
20. Cryan J, Mombereau C, Vassout A (2005) The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev* 29: 571–625.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.009>
21. Can A, Dao D, Arad M, Terrillion C, Piantadosi S, Gould T (2012) The mouse forced swim test. *J Vis Exp* 59: e3638.
<https://doi.org/10.3791/3638>

22. Yankelevitch-Yahav R, Franko M, Huly A, Doron R (2015) The Forced Swim Test as a Model of Depressive-like Behavior. *J Vis Exp* 97: e52587.
<https://doi.org/10.3791/52587>
23. Oka T, Oka K, Hori T (2001) Mechanisms and mediators of psychological stress-induced rise in core temperature. *Psychosom Med* 63(3): 476–486.
<https://doi.org/10.1097/00006842-200105000-00018>
24. Herborn K, Graves J, Jerem P, Evans N, Nager R, McCafferty D, McKeegan D (2015) Skin Temperature Reveals the Intensity of Acute Stress. *Physiol Behav* 152: 225–230.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.09.032>
25. Симон Ю, Виноградова Е, Козырева А, Александров А, Князева В, Станкевич Л, Маркина А, Иоффе В, Александров А (2024) Влияние нокаута гена TAAR1 на характеристики поведения мышей в тесте Порсолта и в приподнятом крестообразном лабиринте. *Вестн Томск гос уни-вер Биология* 68: 157–172. [Simon Y, Vinogradova E, Kozyreva A, Aleksandrov A, Knyazeva V, Stankevich L, Markina A, Ioffe V, Aleksandrov A (2024) Effect of TAAR1 knockout on behavioural characteristics of mice in the forced swim test and in the elevated plus maze test. *Tomsk State Univer J Biol* 68: 157–172. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17223/19988591/6819>
26. Rahi V, Kumar P (2021) Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Int J Dev Neurosci* 81 (2): 107–124.
<https://doi.org/10.1002/jdn.10089>
27. Raony Í, Domith I, Lourenco M, Paes-de-Carvalho R, Pandolfo P (2022) Trace amine-associated receptor 1 modulates motor hyperactivity, cognition, and anxiety-like behavior in an animal model of ADHD. *Progr Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 13(1): 178.
<https://doi.org/10.1038/s41398-023-02481-8>
28. Leo D, Gainetdinov R (2013) Transgenic mouse models for ADHD. *Cell Tissue Res* 354 (1): 259–271.
<https://doi.org/10.1007/s00441-013-1639-1>
29. Revel F, Moreau J, Gainetdinov R, Ferragud A, Vel'azquez-S'anchez C, Sotnikova T, Hoener M (2012) Trace amine-associated receptor 1 partial agonism reveals novel paradigm for neuropsychiatric therapeutics. *Biol Psychiatry* 72(11): 934–942.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.05.014>
30. Eur Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimentation and other Scientific Purposes 1986.

**The effect of chronic stress and TAAR1 knockout on behavior characteristics of mice
in tests assessing depressive-like behavior**

**E. P. Vinogradova^{a,*}, A. Y. Aleksandrov^a, D. V. Belyakov^a, E. S. Dmitrieva^a,
L. N. Stankevich^a, and A. A. Aleksandrov^a**

^aSaint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

**e-mail: e.vinogradova@spbu.ru*

The aim of the study was to study the functional role of the TAAR1 receptor in the formation of the behavioral component of the stress response. The behavior of TAAR1–KO knockout mice and wild type (WT) mice was studied in tests reflecting a depressive-like state before and after the end of chronic stress (predator stress model), as well as delayed behavioral changes after 6 weeks. In the "hanging by the tail" test and the forced swimming Porsolt test, there were no differences between the TAAR1–KO and WT groups in terms of depressive-like behavior both during normal and after chronic stress exposure. However, TAAR1–KO mice, when placed in a stressful situation at the beginning of testing, demonstrate motor hyperactivity, which leads to a sharp increase in the latency periods of the first immobilization in both tests. Knockout of the TAAR1 receptor does not affect the signs of depressive-like behavior; however, it leads to a characteristic increase in the level of motor activity.

Keywords: TAAR1–KO knockouts, tail suspension test, Porsolt test, chronic predator odor stress, depressive-like behavior, stress-induced hyperthermia