



УДК 612.82; 612.817; 616

EDN EGSVZL

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-346-355>

Действие агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызываемую инъекцией α -NETA

Н. В. Полякова¹, А. Ю. Александров¹, В. М. Князева^{✉1}, Е. П. Виноградова¹,
Е. С. Дмитриева¹, Л. Н. Станкевич¹, А. А. Александров¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

Сведения об авторах

Надежда Владимировна Полякова, SPIN-код: 6261-8153, Scopus AuthorID: 8237678000, ResearcherID: G-3085-2015, ORCID: 0000-0002-2660-5898, e-mail: nadezhda.polyakova@spbu.ru

Антон Юрьевич Александров, SPIN-код: 9138-3240, Scopus AuthorID: 57189225865, ResearcherID: J-5335-2014, ORCID: 0000-0001-5398-5526, e-mail: a.alexandrov@spbu.ru

Вероника Михайловна Князева, SPIN-код: 6785-3681, Scopus AuthorID: 55339321700, ResearcherID: J-8222-2013, ORCID: 0000-0002-8587-0712, e-mail: v.m.knyazeva@spbu.ru

Екатерина Павловна Виноградова, SPIN-код: 4899-1537, Scopus AuthorID: 7007105677, ResearcherID: F-6877-2015, ORCID: 0000-0003-2275-4084, e-mail: e.vinogradova@spbu.ru

Елена Сергеевна Дмитриева, SPIN-код: 7102-0491, Scopus AuthorID: 56668899500, ResearcherID: J-8180-2013, ORCID: 0000-0001-9416-2139, e-mail: e.s.dmitrieva@spbu.ru

Людмила Николаевна Станкевич, SPIN-код: 8282-2550, Scopus AuthorID: 6701338372, ResearcherID: J-5822-2012, ORCID: 0000-0002-6197-3266, e-mail: l.stankevich@spbu.ru

Александр Алексеевич Александров, SPIN-код: 3616-6364, Scopus AuthorID: 7201397873, ResearcherID: M-8465-2019, ORCID: 0000-0002-0129-9038, e-mail: a.alexandrov@spbu.ru

Для цитирования: Полякова, Н. В., Александров, А. Ю., Князева, В. М., Виноградова, Е. П., Дмитриева, Е. С., Станкевич, Л. Н., Александров, А. А. (2023) Действие агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызываемую инъекцией α -NETA. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 346–355. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-346-355> EDN EGSVZL

Получена 2 октября 2023; прошла рецензирование 26 ноября 2023; принята 27 ноября 2023.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда, проект № 22-25-00006.

Права: © Н. В. Полякова, А. Ю. Александров, В. М. Князева, Е. П. Виноградова, Е. С. Дмитриева, Л. Н. Станкевич, А. А. Александров (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. В настоящее время собрано достаточно данных о роли следовых аминов (СА) как нейромодуляторов в центральной нервной системе млекопитающих. СА имеют структурное сходство с классическими биогенными аминами, а изменения их концентрации связаны с различными психическими расстройствами. В центральной нервной системе человека широко экспрессируются два представителя семейства рецепторов СА — TAAR1 и TAAR5. В первой части исследования изучены поведенческие эффекты инъекции α -NETA (2-(alpha-naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide, 10 мг/кг, внутривенно) на мышей с нокаутом TAAR5 (KO TAAR5) и на мышей дикого типа (WT). Во второй части исследовано влияние агониста TAAR1, RO 5263397, на дискинезию, вызванную инъекцией α -NETA, у мышей-самцов C57BL/6. Было установлено, что инъекция α -NETA (10 мг/кг) вызывает дискинезию как у мышей дикого типа, так и у мышей KO TAAR5, что позволяет предположить отсутствие связи между дискинезией, индуцированной α -NETA, и рецепторами TAAR5. Во второй части исследования было установлено, что предварительное введение высокой дозы (1 мг/кг) агониста TAAR1 ингибирует дискинезию, индуцированную α -NETA, через 90 минут после инъекции. Кроме того, предварительное введение агониста TAAR1 существенно снижает возникновение длительных тонических спазмов. Таким образом полученные данные позволяют предположить, что агонисты TAAR1 перспективны для лечения определенных форм дискинезии.

Ключевые слова: следовые амины, рецепторы следовых аминов, TAAR1, TAAR5, α -NETA, дискинезия, нокаутные мыши, агонист TAAR1 RO5263397

TAAR1 agonist reduces α -NETA induced dyskinesia

N. V. Polyakova¹, A. Yu. Aleksandrov¹, V. M. Knyazeva^{✉1}, E. P. Vinogradova¹,
E. S. Dmitrieva¹, L. N. Stankevich¹, A. A. Aleksandrov¹

¹ Saint Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Nadezhda V. Polyakova, SPIN: 6261-8153, Scopus AuthorID: 8237678000, ResearcherID: G-3085-2015, ORCID: 0000-0002-2660-5898, e-mail: nadezhda.polyakova@spbu.ru

Anton Yu. Aleksandrov, SPIN: 9138-3240, Scopus AuthorID: 57189225865, ResearcherID: J-5335-2014, ORCID: 0000-0001-5398-5526, e-mail: a.aleksandrov@spbu.ru

Veronika M. Knyazeva, SPIN: 6785-3681, Scopus AuthorID: 55339321700, ResearcherID: J-8222-2013, ORCID: 0000-0002-8587-0712, e-mail: v.m.knyazeva@spbu.ru

Ekaterina P. Vinogradova, SPIN: 4899-1537, Scopus AuthorID: 7007105677, ResearcherID: F-6877-2015, ORCID: 0000-0003-2275-4084, e-mail: e.vinogradova@spbu.ru

Elena S. Dmitrieva, SPIN: 7102-0491, Scopus AuthorID: 56668899500, ResearcherID: J-8180-2013, ORCID: 0000-0001-9416-2139, e-mail: e.s.dmitrieva@spbu.ru

Ludmila N. Stankevich, SPIN: 8282-2550, Scopus AuthorID: 6701338372, ResearcherID: J-5822-2012, ORCID: 0000-0002-6197-3266, e-mail: l.stankevich@spbu.ru

Aleksandr A. Aleksandrov, SPIN: 3616-6364, Scopus AuthorID: 7201397873, ResearcherID: M-8465-2019, ORCID: 0000-0002-0129-9038, e-mail: a.aleksandrov@spbu.ru

For citation: Polyakova, N. V., Aleksandrov, A. Yu., Knyazeva, V. M., Vinogradova, E. P., Dmitrieva, E. S., Stankevich, L. N., Aleksandrov, A. A. (2023) TAAR1 agonist reduces α -NETA induced dyskinesia. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 346–355. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-346-355> EDN EGSVZL

Received 2 October 2023; reviewed 26 November 2023; accepted 27 November 2023.

Funding: This research was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 22-25-00006.

Copyright: © N. V. Polyakova, A. Yu. Aleksandrov, V. M. Knyazeva, E. P. Vinogradova, E. S. Dmitrieva, L. N. Stankevich, A. A. Aleksandrov (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. As of today, sufficient evidence has been collected regarding the role of trace amines (TAs) as neuromodulators in the mammalian central nervous system. TAs share structural similarities with classical biogenic amines, while the changes in their concentration have been linked to various mental disorders. Two widely expressed members of the TAs receptor family in the human central nervous system are TAAR1 and TAAR5 receptors. The first part of this research investigates the behavioral effects of α -NETA injection (2-(α -naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide, 10 mg/kg, IP) on both TAAR5 knockout (KO TAAR5) and wild-type (WT) mice. The second part examines the impact of the TAAR1 agonist, RO 5263397, on dyskinesia induced by α -NETA injection in C57BL/6 male mice. The α -NETA (10 mg/kg) injection causes dyskinesia both in wild-type and KO TAAR5 mice, suggesting that α -NETA-induced dyskinesia is unrelated to the effects on TAAR5 receptors. The second part of the study found that preliminary administration of a high dose (1 mg/kg) of a TAAR1 agonist inhibited α -NETA-induced dyskinesia 90 min after injection. In addition, the number of expanded dyskinesias was significantly reduced in groups pre-injected with TAAR1 agonist. These findings suggest that TAAR1 agonists hold promise for the treatment of certain forms of dyskinesia.

Keywords: trace amines, trace amine-associated receptors, TAAR1, TAAR5, α -NETA, dyskinesia, knockout mice, TAAR1 agonist RO5263397

Введение

Следовые амины (СА), действие которых опосредуется через систему рецепторов, связанных со СА (*trace amine associated receptors*, TAARs), представляют собой эндогенные аминные соединения, присутствующие в низких концентрациях в центральной нервной системе позвоночных (Gainetdinov et al. 2018). Предполагается, что изменения в регуляции СА связа-

ны с многочисленными неврологическими расстройствами, включая депрессию, мигрень, болезнь Альцгеймера, синдром дефицита внимания и гиперактивности, шизофрению и болезнь Паркинсона (Boulton 1980; Branchek, Blackburn 2003; Pei et al. 2016). Членами семейства рецепторов СА, гены которых экспрессируются в центральной нервной системе человека, являются рецепторы TAAR1, TAAR5, TAAR6 и TAAR8 (Gainetdinov et al. 2018).

Несколько исследований показали сильную нейромодуляторную активность TAAR1 в отношении дофаминергической, серотонинергической и глутаматергической систем (Lindemann et al. 2008; Revel et al. 2011). TAAR1 является важным отрицательным моноаминергическим и положительным глутаматергическим модулятором нейромодуляторных систем, что делает его потенциальной полезной мишенью для фармакотерапии психоневрологических расстройств, включая шизофрению. В настоящее время описано несколько специфичных агонистов TAAR1, которые, как было установлено, имеют значительное сходство со многими психотропными препаратами (Simmler et al. 2016), а перспективный препарат для лечения шизофрении, основанный на TAAR1 в качестве терапевтической мишени, находится на стадии клинических испытаний (Berry et al. 2017).

Недавно полученные результаты показали, что еще один представитель семейства следовых аминов TAAR5 совместно с TAAR1 локализован в миндалевидном теле, аркуатном ядре и вентромедиальном гипоталамусе (Dinter et al. 2015). При изучении действия предполагаемого агониста TAAR5 — 2-(alpha-naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide (α -NETA), были обнаружены специфические нарушения моторного поведения, сходные с проявлениями поздней дискинезии у человека (Aleksandrov et al. 2019d).

Таким образом, целью настоящего исследования было выяснить: во-первых, действительно ли можно связать эффекты α -NETA (дискинезия) с его предполагаемым воздействием на рецепторы TAAR5; во-вторых, учитывая выраженные эффекты агониста TAAR1, проверить, какое действие на дискинезию, вызываемую α -NETA, оказывает агонист RO 5263397.

Материалы и методы

Опыты были проведены в соответствии с международными нормами по обращению с животными в эксперименте (European Convention... 1986). Протокол эксперимента одобрен Этическим комитетом биологического факультета СПбГУ (№ 131–03–2 от 17 февраля 2022 г.).

Объект исследования

В первой части эксперимента было исследовано влияние инъекции α -NETA на поведение мышей нокауты по TAAR5 (KO TAAR5) и мышей дикого типа (wild type, WT). В каждой группе по 4 самца, средний вес $27,5 \pm 0,6$ г и $28,5 \pm 1$ г, соответственно. Возраст животных от трех до четырех месяцев.

Вторую часть исследования проводили на самцах мышей линии C57BL/6 ($n = 15$). Возраст животных от двух до трех месяцев, средний вес в период проведения экспериментов составлял $29,3 \pm 2,05$ г.

Животные были получены из вивария Научного парка СПбГУ. Мышей содержали в стандартных условиях при свободном доступе к пище и воде.

Аппаратура и методы

В первой части работы исследовали влияние α -NETA (химическая формула: 2-(alpha-naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide, производство фирмы ABCAM (UK), дозировка 10 мг/кг) на поведение мышей. Регистрировали поведение каждого животного в течение 15 минут до введения препарата и в течение одного часа после введения.

Во второй части работы исследовали действие агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызываемую инъекцией α -NETA. Были использованы следующие препараты: агонист TAAR1 (название: RO 5263397, был синтезирован Orion Pharma (Финляндия), химическая формула: $C_{10}H_{13}Cl_2FN_2O$, дозировка 1 мг/кг или 0,5 мг/кг), α -NETA (производство фирмы ABCAM (UK), дозировка 10 мг/кг) и, в контроле, физиологический раствор (0,9% NaCl). Выбор указанной дозировки RO 5263397 и α -NETA был основан на данных, полученных при изучении влияния этих препаратов на вызванные потенциалы мозга мышей (Aleksandrov et al. 2019a; 2019b; 2019c), а также на поведение животных (Aleksandrov et al. 2019d; Vinogradova et al. 2020).

В данной части исследования были сформированы три группы мышей по пять животных. В первой группе мышам производили предварительную инъекцию агониста TAAR1 в дозировке 1 мг/кг («высокая доза»), животным второй группы производили предварительную инъекцию агониста TAAR1 в дозировке 0,5 мг/кг («низкая доза»). Третьей («контрольной») группе животных производили предварительную инъекцию физиологического раствора объемом от 0,08 до 0,15 мл в соответствии с весом животного. Затем через 15 минут всем животным производили введение α -NETA в дозировке 10 мг/кг. Все инъекции производили внутривентриально.

Регистрацию поведения животного начинали за 15 минут до введения предварительной инъекции и продолжали в течении пяти часов после введения α -NETA, а также через 24 часа после введения препаратов в течение одного часа.

Для наблюдения за поведением мышь помещали в индивидуальный пластмассовый бокс размером 31 × 20 × 18 см. Регистрацию поведения производили с помощью цифровой видеокамеры JVC GZ-MG57E, закрепленной на штативе непосредственно над боксом, в котором находилось животное.

В данной работе изучали специфическое нарушение моторного поведения в форме дискинезии, формирующееся под влиянием системного введения препарата α -NETA.

Ранее нами было обнаружено, что α -NETA (дозировка 10 мг/кг) вызывает нарушение движения (дискинезию) в виде продолжительных тонических спазмов (Aleksandrov et al. 2019d). Длительные спазмы в развернутой форме обычно начинались с появления характерной брюшной перетяжки. Затем наблюдалось вытягивание тела с искривлением в правую или левую сторону в поясничном отделе (продолжительностью от 1 до 17 с), либо происходило прогибание спины в позе гиперлордоза (продолжительностью от 30 с до 1 мин). Кроме того, было выявлено, что часть продолжительных приступов в развернутой форме завершается выраженной экстензией задних конечностей с выворачиванием стопы подошвой вверх (около 20% всех приступов).

В данном исследовании при анализе видеозаписи фиксировали время появления каждого приступа дискинезии и затем оценивали количество приступов в каждом временном интервале. Нами было выделено два типа приступов дискинезии: 1) продолжительный тонический спазм с удлинением и искривлением тела в поясничном отделе — приступ дискинезии; 2) продолжительный тонический спазм с удлинением и искривлением тела в поясничном отделе, завершающийся выраженной экстензией задних конечностей с выворачиванием стопы подошвой вверх — приступ дискинезии в развернутой форме с экстензией.

Подсчет количества всех приступов дискинезии проводили в следующих временных интервалах: первые 30 минут записи после введения α -NETA были поделены на интервалы по пять минут, оставшееся время, начиная с 31-й минуты записи, было поделено на интервалы по 30 минут. Дополнительно, во время анализа фиксировали поведение (груминг, стойки, перебежки) и состояние животного (бодрствование/сон)

Статистический анализ данных

Адекватные размеры выборки были определены с использованием уравнения ресурсов (Charan, Kantharia 2013). Учитывая когорту

животных, подвергшихся воздействию α -NETA, как описано в предыдущей публикации (Aleksandrov et al. 2019d), значение «E» нашей выборки для первой части эксперимента попадало в необходимый диапазон от 10 до 20. Статистическое оценивание достоверности различий осуществляли с использованием перестановочной статистики против нулевой гипотезы отсутствия сдвига. Реализованный вычислительный алгоритм аналогичен стандартным вариантам, подробное изложение которых можно найти, например, в работе (DasGupta 2008). В качестве референтной реализации использовали процедуру в среде R-studio, представленную Шитиковым и Розенбергом (Shitikov, Rosenberg 2013). Для оценки среднего выборочных распределений вычисляли медиану попарных средних значений по Уэлшу (Fried, Dealing 2011). По каждой паре сравнений во всех рассматриваемых временных интервалах вычисляли достигаемый уровень значимости различий, на основе значений которого делали вывод о достоверности наблюдаемых изменений.

Результаты

До введения препаратов в течение 15 минут у всех мышей наблюдалась обычная двигательная и исследовательская активность: перебежки по боксу, стойки, груминг головы и спины, что соответствует классическому поведению животного в новой среде.

Введение α -NETA (в дозе 10 мг/кг) значительно изменяло поведение мышей как в первой, так и во второй части исследования. Первые 30 минут двигательная активность практически отсутствовала, животное замирало, прижавшись к стенке бокса, время от времени перемещалось по боксу в поисках более удобного положения и иногда, вытянувшись, прижималось брюшной областью к поверхности пола бокса. Также, в отличие от обычных мышечных вздрагиваний, характерных для мышей в спокойном состоянии, в течение всей записи наблюдались кратковременные спастические сокращения в брюшной области в форме толчков в росто-каудальном направлении со смещением животного назад или толчков в вентро-дорсальном направлении.

Наряду с этим у животных наблюдались продолжительные тонические спазмы — приступы дискинезии. Инициация приступов дискинезии (длительных спастических сокращений) вызывала беспокойство у животных, непродолжительный груминг брюшной области; многие животные, выполняя один-два оборота, крутились на месте, иногда перемещались по боксу.

Первая часть исследования

При сравнении действия α -NETA на поведение мышей дикого типа и нокаутов по TAAR5 было обнаружено, что приступы дискинезии наблюдались в обеих группах у всех животных без исключения. Появление первых приступов дискинезии у мышей в исследуемых группах происходит в интервале 6–10 минут (рис. 1).

Достоверные различия между группами KO TAAR5 и WT отсутствуют как по латентному периоду появления первых приступов дискинезии, так и по количеству приступов на протяжении всего исследуемого периода ($p \geq 0,05$). Развернутые приступы дискинезии с экстензией задних конечностей наблюдаются примерно в 16% случаев в группе KO TAAR5 и примерно в 25% случаев в группе WT (различия не достоверны).

Вторая часть исследования

Во второй части исследования изучали влияние агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызванную инъекцией α -NETA. В зависимости от группы животных, наблюдалось различное изменение моторного поведения у мышей (рис. 2). Введение предварительной инъекции RO 5263397 мышам линии C57BL/6 отражалось в той или иной мере на времени появления первых приступов дискинезии, выраженности проявления и количестве продолжительных тонических спазмов, возникающих в ответ на введение α -NETA.

В контрольной группе (физиологический раствор и α -NETA в дозе 10 мг/кг) наблюдается типичное изменение поведения в ответ на введение α -NETA. Первые приступы дискинезии появляются уже начиная с шестой минуты, чуть позже возникают развернутые приступы дискинезии с экстензией задних конечностей. В целом, картина приступов дискинезии аналогична описанной в первой части исследования и в более ранней работе (Aleksandrov et al. 2019d).

В группе «высокая доза» (RO 5263397 в дозе 1 мг/кг и α -NETA в дозе 10 мг/кг) введение предварительной инъекции агониста TAAR1 приводит к полному отсутствию приступов дискинезии в ответ на введение α -NETA в течение первых полутора часов. Появление первых приступов дискинезии у животных в этой группе происходит в интервале 78–114 минут. Первые приступы дискинезии в полной форме с выраженной экстензией задних конечностей появляются позднее, в интервале 97–176 минут.

При сравнении групп животных по латентному периоду первых приступов дискинезии и первых приступов дискинезии в развернутой форме было выявлено статистически значимое отличие группы «высокая доза» от групп «низкая доза» и «контроль» ($p \leq 0,05$).

По результатам статистического анализа при сравнении групп животных по количеству приступов дискинезии были получены достоверные отличия между контрольной группой и группой «высокая доза» в первых пяти 30-минутных

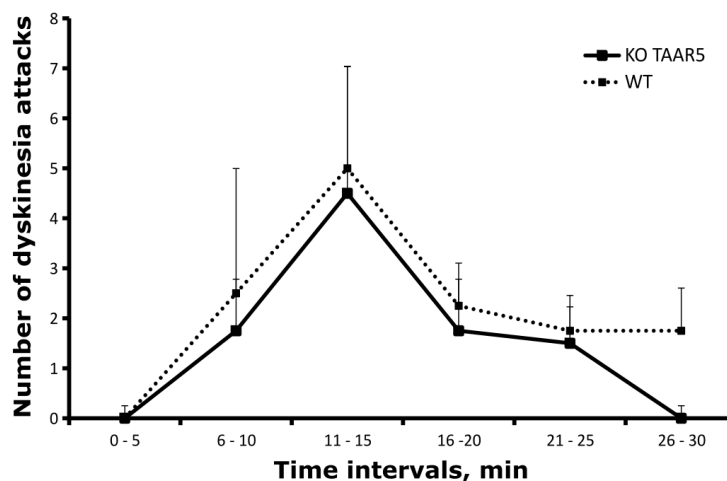


Рис. 1. Приступы дискинезии у мышей группы KO TAAR5 (сплошная линия) и группы WT (пунктирная линия) первые 30 минут анализируемого периода (разделен на интервалы по 5 мин). Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. По оси абсцисс указаны интервалы времени, по оси ординат — количество приступов дискинезии

Fig. 1. Dyskinesia attacks in KO TAAR5 (solid line) and WT mice (dashed line) during the first 30 minutes of the analyzed period (divided into 5 min intervals). The data are presented as an average \pm SEM. The abscissa shows the time intervals, the ordinate shows the number of dyskinesia attacks

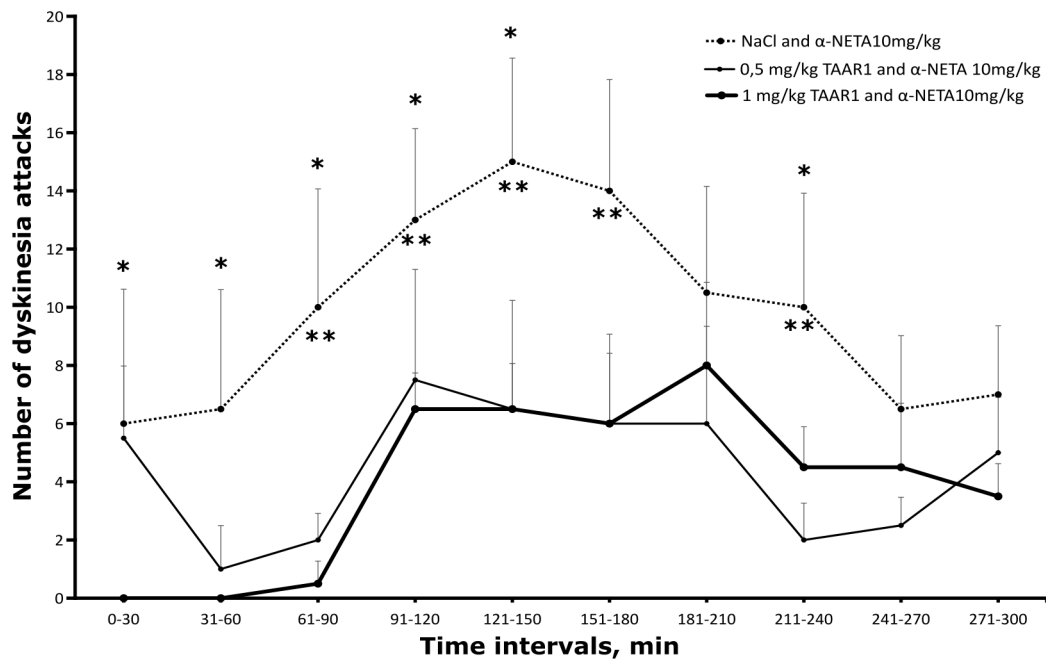


Рис. 2. Приступы дискинезии у мышей линии C57BL/6 в течении всего анализируемого периода (разделен на интервалы по 30 мин). Первая группа — толстая сплошная линия, вторая — тонкая сплошная линия, третья — пунктирная линия. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. По оси абсцисс указаны интервалы времени, по оси ординат — количество приступов дискинезии. * — достоверные отличия ($p \leq 0,05$) между первой и третьей группами, ** — достоверные отличия ($p \leq 0,05$) между второй и третьей группами

Fig. 2. Number of dyskinesia attacks in C57BL/6 mice during the entire analyzed period (divided into 30 min intervals). The thick solid line denotes the high-dose group, the thin solid line the low-dose group, the dashed line the control group. The data are presented as an average \pm SEM. The abscissa shows time intervals, the ordinate shows the number of dyskinesia attacks. * — significant differences ($p \leq 0.05$) between the high-dose and control groups, ** — significant differences ($p \leq 0.05$) between the low-dose and control groups

временных интервалах от начала анализируемого периода, а также в интервале 211–240 минут ($p \leq 0,05$).

В группе «низкая доза» (RO 5263397 в дозе 0,5 мг/кг и α -NETA в дозе 10 мг/кг) первые приступы дискинезии появляются в интервале 8–19 минут. Первые приступы дискинезии в полной форме появляются в интервале 11–90 минут. Можно отметить, что введение предварительной инъекции RO 5263397 в дозе 0,5 мг/кг отразилось на поведении животных и в этой группе. Хотя латентный период появления первых приступов дискинезии не отличается от контрольной группы (различия недостоверны), однако количество приступов дискинезии для группы «низкая доза» на протяжении всего исследования занимает либо промежуточное положение между группами «контроль» и «высокая доза», либо близко по значениям с данными группы «высокая доза».

Для группы «низкая доза» были найдены достоверные отличия от контрольной группы по количеству приступов дискинезии в четырех

30-минутных интервалах, начиная с 61-й минуты анализируемого периода и в интервале 211–240 минут ($p \leq 0,05$).

Также были найдены достоверные отличия ($p \leq 0,05$) по количеству приступов дискинезии между первой и второй группами в первых двух 30-минутных временных интервалах и в интервале 91–120 минут.

При сравнении групп между собой по количеству приступов дискинезии в развернутой форме с экстензией задних конечностей этот показатель также различался между группами. В контрольной группе процент приступов дискинезии с экстензией задних конечностей составляет в среднем 36% и достоверно отличается ($p \leq 0,001$) по данному параметру от группы «высокая доза» (17% приступов) и от группы «низкая доза» (22% приступов).

Поскольку регистрацию поведения выполняли в течение пяти часов, периоды активности животного чередовались с периодами дремоты или глубокого сна, что могло сказываться на числе приступов дискинезии во время записи.

Через сутки были обнаружены лишь единичные приступы дискинезии у двух животных в контрольной группе.

Обсуждение

При изучении эффекта α -NETA на поведение мышей нокаутов по TAAR5 (КО TAAR5) и мышей дикого типа (WT) было показано, что абсолютно у всех животных из группы нокаутов по TAAR5 инъекции α -NETA вызывают точно такую же дискинезию, как и у животных контрольной группы (дикого типа). Отсутствуют какие бы то ни было различия как по временному течению, так и по интенсивности и характеру приступов. Поэтому, несмотря на небольшое количество исследуемых животных в группах, можно сделать вывод, что дискинезия, вызываемая α -NETA, не связана с воздействием на TAAR5 рецепторы. Возможно возникновение дискинезии связано с воздействием α -NETA на холинэргическую систему — показано его подавляющее действие на активность холинацетилтрансферазы (Kumar et al. 2017).

Предварительная инъекция агониста TAAR1 RO 5263397 (1 мг/кг) животным в группе «высокая доза» полностью блокирует в течение полутора часов какие бы то ни было проявления дискинезии после введения α -NETA. В дальнейшем дискинезия начинает проявляться в значительно ослабленном виде, и интенсивность приступов достоверно снижена на протяжении четырех часов.

Несмотря на небольшие размеры контрольной группы, приступы дискинезии наблюдались у всех мышей, и уровня статистической значимости достигали отличия по количеству приступов, интенсивности и латентному периоду первых приступов дискинезии у контрольной группы в сравнении с данными показателями у групп «высокая доза» и «низкая доза».

В группе «низкая доза» при инъекции половинной дозы RO 5263397 (0,5 мг/кг) подавление дискинезии значительно меньше, и все показатели занимают промежуточное положение между контролем и группой «высокая доза». Напомним, что доза 1 мг/кг была выбрана на основании изучения влияния RO 5263397 на такие компоненты ВП, как сенсорный гейтинг и аналог негативности рассогласования (Aleksandrov et al. 2019a; 2019b; 2019c).

Такое действие TAAR1 можно объяснить его сильной нейромодулирующей активностью в дофаминергической, серотонинергической

и глутаматергической системах (Lindemann et al. 2008; Revel et al. 2011). Экспрессия мРНК TAAR1 преимущественно происходит в различных областях лимбической и моноаминергических систем, включая черную субстанцию, голубое пятно, дорсальное ядро шва, вентральную область покрышки, полосатое тело и базальные ганглии (Lindemann et al. 2008; Panas et al. 2010). Было показано, что TAAR1 снижает частоту возбуждения дофаминовых (DA) и 5-гидрокси-триптаминовых нейронов в лимбических и моноаминергических системах, таких как дорсальное ядро шва и вентральная область покрышки (Espinoza et al. 2011; Revel et al. 2011), а также ингибирует поведенческие и электрофизиологические эффекты психостимуляторов, тем самым предотвращая гипердофаминергическую и гипоглутаматергическую активность (Revel et al. 2011; 2013).

Исследования с использованием мышей с двойным мутантным нокаутом транспортера DA/TAAR1 продемонстрировали повышенный уровень спонтанной двигательной активности по сравнению с мышами, нокаутными по родительскому транспортеру DA, что указывает на то, что TAAR1 может играть ингибирующую роль в регуляции DA-зависимой локомоторной гиперактивности (Sotnikova et al. 2008). Это предположение было дополнительно подтверждено недавними исследованиями, которые выявили усиление моторной дисрегуляции и повышенное фосфорилирование полосатых глутаматергических рецепторов у мышей с нокаутом TAAR1 после субхронического лечения L-ДОФА. И наоборот, введение агониста TAAR1 RO5166017 уменьшало количество индуцированных L-ДОФА ротаций и дискинезии, а также ослабляло фосфорилирование глутаматергических рецепторов (Alvarsson et al. 2015). Кроме того, было обнаружено, что хроническое лечение L-ДОФА повышает уровни 3-метокситирамина (внеклеточного метаболита дофамина и агониста TAAR1), это позволяет предположить, что его взаимодействие с TAAR1 может способствовать двигательным нарушениям (Espinoza et al. 2012). Было показано, что некоторые следовые амины, наряду с производными L-ДОФА, действуют как ложные нейротрансмиттеры и потенциально способствуют дискинезии, индуцированной L-ДОФА (Chagraoui et al. 2020).

В совокупности эти результаты подчеркивают важную роль TAAR1 как нейромодулятора, который противодействует дофаминергической гиперактивности. Следовательно, он может играть решающую роль в поведенческих

расстройствах, связанных с нарушением метаболизма дофамина, таких как болезнь Паркинсона и дискинезии, вызванные L-ДОФА.

Результаты исследования показывают, что агонисты TAAR1 могут оказаться перспективными для лечения некоторых форм дискинезии, а дискинезия, вызываемая введением α -NETA, может быть использована в качестве экспериментальной модели при поиске эффективных лекарственных средств.

Заключение

Введение агониста TAAR5 α -NETA в дозе 10 мг/кг вызывает двигательные нарушения, напоминающие нейролептик-индуцированную дискинезию, как у мышей дикого типа, так и у мышей с нокаутом TAAR5. Это позволяет предположить, что дискинезия, вызванная α -NETA, не связана с его влиянием на TAAR5. Дискинезия проявляется сразу после однократного введения α -NETA и характеризуется удлинением тела, искривлением в поясничной области и разгибанием задних конечностей.

Напротив, предварительное введение высокой дозы (1 мг/кг, внутривенно) агониста TAAR1 (RO 5263397) ингибирует дискинезию, индуцированную α -NETA, через 90 минут после инъекции по сравнению с контролем (физраствор) и низкой дозой агониста TAAR1 (0,5 мг/кг, внутривенно). Кроме того, предварительное введение агониста TAAR1 существенно снижает возникновение длительных тонических спазмов, характеризующихся выраженным разгибанием задних конечностей. Эти данные позволяют предположить, что агонисты TAAR1 перспективны для лечения определенных форм дискинезии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Все проводимые процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации, международными нормами по проведению медико-биологических исследований

с использованием животных и рекомендациям этического комитета биологического факультета СПбГУ.

Ethics Approval

The research complied with all the ethical standards approved by the legal acts of the Russian Federation, the principles of the Basel Declaration, international standards for conducting biomedical research using animals and the recommendations of the ethical committee of the Faculty of Biology of St. Petersburg State University.

Вклад авторов

- a. Полякова Надежда Владимировна — идея работы и разработка дизайна исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование манускрипта;
- б. Александров Антон Юрьевич — анализ и интерпретация данных, статистическая обработка комплекса данных;
- в. Князева Вероника Михайловна — сбор данных, написание и редактирование манускрипта;
- г. Виноградова Екатерина Павловна — сбор данных, анализ и интерпретация данных;
- д. Дмитриева Елена Сергеевна — сбор данных, написание и редактирование манускрипта;
- е. Станкевич Людмила Николаевна — сбор данных, написание и редактирование манускрипта;
- ж. Александров Александр Алексеевич — идея работы и разработка дизайна исследования, написание и редактирование манускрипта.

Author Contributions

- a. Nadezhda V. Polyakova — conceptualization and development of the study design, data collection, data analysis and interpretation, writing and editing the manuscript;
- b. Anton Yu. Aleksandrov — data analysis and interpretation, statistical analysis;
- c. Veronika M. Knyazeva — data collection, writing and editing the manuscript;
- d. Ekaterina P. Vinogradova — data collection, analysis and interpretation;
- e. Elena S. Dmitrieva — data collection, writing and editing the manuscript;
- f. Ludmila N. Stankevich — data collection, writing and editing the manuscript;

- g. Alersander A. Aleksandrov — conceptualization and development of the study design, writing and editing the manuscript. ставление генетически модифицированных мышей.

Благодарности

Выражаем благодарность Виварию Ресурсного центра Научного парка СПбГУ за предо-

Acknowledgements

We thank the staff of the Vivarium of the Resource Center of the Science Park of Saint Petersburg State University for providing knockout animals.

References

- Aleksandrov, A. A., Dmitrieva, E. S., Volnova, A. B. et al. (2019a) Effect of alpha-NETA on auditory event related potentials in sensory gating study paradigm in mice. *Neuroscience Letters*, vol. 712, no. 2, article 134470. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134470> (In English)
- Aleksandrov, A. A., Dmitrieva, E. S., Volnova, A. B. et al. (2019b) Effect of trace amine-associated receptor 1 agonist RO5263397 on sensory gating in mice. *NeuroReport*, vol. 30, no. 15, pp. 1004–1007. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001313> (In English)
- Aleksandrov, A. A., Knyazeva, V. M., Volnova, A. B. et al. (2019c) Trace amine-associated receptor 1 agonist modulates mismatch negativity-like responses in mice. *Frontiers in Pharmacology*, vol. 10, article 470. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00470> (In English)
- Aleksandrov, A. A., Polyakova, N. V., Vinogradova, E. P. et al. (2019d) The TAAR5 agonist α -NETA causes dyskinesia in mice. *Neuroscience Letters*, vol. 704, pp. 208–211. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.04.028> (In English)
- Alvarsson, A., Zhang, X., Stan, T. L. et al. (2015) Modulation by trace amine-associated receptor 1 of experimental parkinsonism, L-DOPA responsiveness, and glutamatergic neurotransmission. *Journal of Neuroscience*, vol. 35, no. 41, pp. 14057–14069. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1312-15.2015> (In English)
- Berry, M. D., Gainetdinov, R. R., Hoener, M. C., Shahid, M. (2017) Pharmacology of human trace amine-associated receptors: Therapeutic opportunities and challenges. *Pharmacology & Therapeutics*, vol. 180, pp. 161–180. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.07.002> (In English)
- Boulton, A. A. (1980) The properties and potential function of some brain trace amines. *Progress in Clinical and Biological Research*, vol. 39, pp. 291–303. PMID: 6105673 (In English)
- Brancheck, T. A., Blackburn, T. P. (2003) Trace amine receptors as targets for novel therapeutics: Legend, myth and fact. *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 3, no. 1, pp. 90–97. [https://doi.org/10.1016/s1471-4892\(02\)00028-0](https://doi.org/10.1016/s1471-4892(02)00028-0) (In English)
- Chagraoui, A., Boulain, M., Juvin, L. et al. (2020) L-DOPA in Parkinson's disease: Looking at the “false” neurotransmitters and their meaning. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 1, article 294. <https://doi.org/10.3390/ijms21010294> (In English)
- Charan, J., Kantharia, N. D. (2013) How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, vol. 4, no. 4, pp. 303–306. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726> (In English)
- DasGupta, A. (2008) *Asymptotic theory of statistics and probability*. New York: Springer Publ., 722 p. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-75971-5> (In English)
- Dinter, J., Mühlhaus, J., Wienchol, C. L. et al. (2015) Inverse agonistic action of 3-iodothyronamine at the human trace amine-associated receptor 5. *PLoS One*, vol. 10, no. 2, article e0117774. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117774> (In English)
- Espinoza, S., Manago, F., Leo, D. et al. (2012) Role of catechol-O-methyltransferase (COMT)-dependent processes in Parkinson's disease and L-DOPA treatment. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets*, vol. 11, no. 3, pp. 251–263. <https://doi.org/10.2174/187152712800672436> (In English)
- Espinoza, S., Salahpour, A., Masri, B. et al. (2011) Functional interaction between trace amine-associated receptor 1 and dopamine D2 receptor. *Molecular Pharmacology*, vol. 80, no. 3, pp. 416–425. <https://doi.org/10.1124/mol.111.073304> (In English)
- European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. (1986) Strasbourg: [s. n.], 11 p. (In English)
- Fried, R., Dehling, H. (2011) Robust nonparametric tests for the two-sample location problem. *Statistical Methods & Applications*, vol. 20, no. 4, pp. 409–422. <https://doi.org/10.1007/s10260-011-0164-1> (In English)
- Gainetdinov, R. R., Hoener, M. C., Berry, M. D. (2018) Trace amines and their receptors. *Pharmacological Reviews*, vol. 70, no. 3, pp. 549–620. <https://doi.org/10.1124/pr.117.015305> (In English)
- Kumar, R., Kumar, A., Långström, B., Darreh-Shori, T. (2017) Discovery of novel choline acetyltransferase inhibitors using structure-based virtual screening. *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, article 16287. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16033-w> (In English)

- Lindemann, L., Meyer, C. A., Jeanneau, K. et al. (2008) Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 324, no. 3, pp. 948–956. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.132647> (In English)
- Panas, H. N., Lynch, L. J., Vallender, E. J. et al. (2010) Normal thermoregulatory responses to 3-iodothyronamine, trace amines and amphetamine-like psychostimulants in trace amine associated receptor 1 knockout mice. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 88, no. 9, pp. 1962–1969. <https://doi.org/10.1002/jnr.22367> (In English)
- Pei, Y., Asif-Malik, A., Canales, J. J. (2016) Trace amines and the trace amine-associated receptor 1: Pharmacology, neurochemistry, and clinical implications. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 10, article 148. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00148> (In English)
- Revel, F. G., Moreau, J.-L., Gainetdinov, R. R. et al. (2011) TAAR1 activation modulates monoaminergic neurotransmission, preventing hyperdopaminergic and hypoglutamatergic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 108, no. 20, pp. 8485–8490. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103029108> (In English)
- Revel, F. G., Moreau, J. L., Pouzet, B. et al. (2013) A new perspective for schizophrenia: TAAR1 agonists reveal antipsychotic-and antidepressant-like activity, improve cognition and control body weight. *Molecular Psychiatry*, vol. 18, no. 5, pp. 543–556. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.57> (In English)
- Shitikov, V. K., Rosenberg, G. S. (2013) *Randomizatsiya i butstrep: statisticheskij analiz v biologii i ekologii s ispol'zovaniem R [Randomization and bootstrap: Statistical analysis in biology and ecology using R]*. Tolyatti: Kassandra Publ., 314 p. (In Russian)
- Simmler, L. D., Buchy, D., Chaboz, S. et al. (2016) In vitro characterization of psychoactive substances at rat, mouse, and human trace amine-associated receptor 1. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 357, no. 1, pp. 134–144. <https://doi.org/10.1124/jpet.115.229765> (In English)
- Sotnikova, T. D., Zorina, O. I., Ghisi, V. et al. (2008) Trace amine associated receptor 1 and movement control. *Parkinsonism & Related Disorders*, vol. 14, no. 2. Supplement, pp. S99–S102. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2008.04.006> (In English)
- Vinogradova, E. P., Polyakova, N. V., Stankevich, L. N., Aleksandrov, A. A. (2020) Vliyanie agonista TAAR5 α -NETA na povedenie myshej linii C57Bl/6 [Effects of TAAR5 α -NETA agonist on behavior in C57Bl/6 mice]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti imeni I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 70, no. 1, pp. 62–70. <https://doi.org/10.31857/S0044467719060133> (In Russian)