

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ВЛИЯНИЕ ТААР1 НА ИЗМЕНЕНИЯ ПЛОТНОСТИ НЕЙРОНОВ И ГЛИИ
НЕОКОРТЕКСА ПОСЛЕ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА

©2025 г. Д. С. Калинина^{1,2,3,*}, А. А. Чесноков¹, Е. А. Романюк¹, А. Д. Буглинина¹,
Д. В. Хузин¹, С. И. Милов¹, С. П. Коновалова¹, П. Ю. Шкорбатова^{2,4},
Н. В. Павлова⁴, А. Д. Бельская², Р. Р. Гайнетдинов², П. Е. Мусиенко^{4,5,6,**}

¹Научно-технологический университет “Сириус”, направление “Нейробиология”,
федеральная территория “Сириус”, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Институт трансляционной
биомедицины, Санкт-Петербург, Россия

³Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, РАН,
Санкт-Петербург, Россия

⁴Институт физиологии им. И.П. Павлова, РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁵Центр LIFT (Life Improvement by Future Technologies), Москва, Россия

⁶Центр мозга и нейротехнологий, Москва, Россия

*E-mail: kalinina.ds@talantiuspeh.ru

**E-mail: pol-spb@mail.ru

Поступила в редакцию 09.07.2025 г.

После доработки 10.08.2025 г.

Принята к публикации 26.08.2025 г.

Травма спинного мозга (ТСМ) приводит к развитию сложного каскада вторичных патологических процессов, включая хроническое нейровоспаление и нейропластические изменения как непосредственно в месте повреждения, так и в удаленных структурах, включая перестройку коры головного мозга. В данной работе исследовалась роль рецепторов следовых аминов 1-го типа ТААР1 в регуляции нейровоспаления в соматосенсорной коре после латеральной гемисекции спинного мозга у мышей дикого типа и с нокаутом гена, кодирующего *taar1* (ТААР1-КО). Значимых различий в сенсомоторном восстановлении между группами не было выявлено. Однако иммуногистохимический анализ продемонстрировал существенные изменения в глиальной популяции после ТСМ: у мышей ТААР1-КО наблюдалось значительное увеличение количества GFAP⁺-астроцитов в гранулярном и пирамидном слоях коры, что указывает на усиленный астроглиоз. При этом количество провоспалительных S100β⁺-астроцитов не изменялось, что подчеркивает избирательное влияние ТААР1 на различные субпопуляции. Помимо этого, у ТААР1-КО отмечалось снижение плотности микроглиальных клеток, маркированных антителами к Iba-1. Также у этих мышей было обнаружено уменьшение численности пирамидных нейронов, что может указывать на снижение жизнеспособности данных клеток вследствие отсутствия ТААР1. Важно отметить, что генотип не оказывал влияния на данные параметры вне контекста ТСМ. Полученные данные демонстрируют значимую роль ТААР1 в модуляции глиального ответа и расширяют понимание молекулярных механизмов нейровоспаления при ТСМ, что открывает перспективы для разработки новых нейропротективных стратегий.

Ключевые слова: следовые амины, ТААР1, нейровоспаление, кора головного мозга, соматосенсорная кора, травма спинного мозга

DOI: 10.7868/S2658655X25100054

ВВЕДЕНИЕ

Травма спинного мозга (ТСМ) представляет собой повреждение аксональных проводящих путей, а также гибель нейронов и глиальных клеток спинного мозга, вызванные острым или хроническим физическим воздействием, которое приводит к полной или частичной потере соматических и вегетативных функций ниже уровня поражения. Помимо физической травмы, ТСМ характеризуется каскадом патологических процессов, обуславливающих очаг нейровоспаления в месте повреждения нервной ткани [1]. Осложнения ТСМ включают полиорганные нарушения, затрагивающие все системы организма, включая индукцию масштабного системного воспаления и супраспинальное распространение изменений в ЦНС [2]. У пациентов с ТСМ и в экспериментальных моделях отмечается хронически повышенный титр и репертуар аутоантител [3], а также рост концентрации провоспалительных цитокинов и хемокинов в плазме крови [4]. Кроме того, показано, что экстракраниальные повреждения в целом могут являться причиной развития молекулярного воспалительного ответа в головном мозге [5]. Кора головного мозга участвует в реализации высших нервных функций, таких как восприятие, мышление, память и сознательная двигательная активность [6]. Эта структура претерпевает значительные системные перестройки в результате ТСМ, обусловленные как процессами синаптической реорганизации, так и развитием нейровоспаления [7]. Из-за вышеперечисленного, а также аксональной травмы проекционных проводящих путей и деафференциации [8, 9] изменения затрагивают в том числе и соматосенсорную кору [10], хотя и не ограничиваются ею и могут также наблюдаться в зонах мозга, отвечающих за модуляцию внимания, эмоциональный аффект и память [11].

Воспалительные процессы в ЦНС регулируются сложным взаимодействием между нейронами, астроцитами, микроглией и иммунными клетками [12]. Одним из факторов, модулирующих функциональные изменения в ЦНС и на периферии, является рецептор, ассоциированный со следовыми аминами, 1-го типа (TAAR1). TAAR1 относится к семейству сопряженных с G-белками рецепторов (GPCR) и экспрессируется в нейронах, астроцитах и клетках иммунной системы [13]. Этот рецептор участвует в регуляции нейротрансмиттерных систем, включая дофаминовую и серотониновую [14], а также модулирует воспалительные процессы [13], что делает его перспективной мишенью для терапевтического воздействия при нейродегенеративных повреждениях ЦНС.

Несмотря на растущий интерес к роли TAAR1 в регуляции воспаления, механизмы его влияния на астроциты и микроглию при ТСМ остаются недостаточно изученными. В частности, малоизвестно, как отсутствие TAAR1 сигналинга влияет на морфофункциональные изменения в коре головного мозга после травматических повреждений нервной системы. Изучение этих процессов может способствовать разработке новых стратегий, направленных на модуляцию нейровоспаления и активацию нейропластичности для улучшения функциональных исходов после ТСМ. В данном исследовании рассматривается участие TAAR1 в регуляции вызванных ТСМ глиальных и нейрональных изменений в соматосенсорной коре головного мозга.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на самцах мышей дикого типа TAAR1-WT ($n = 14$) и с нокаутом TAAR1-KO ($n = 16$), полученных путем скрещивания более 10 поколений гетерозиготных животных TAAR1^{C57BL6/129SvJ}. Генотипирование мышей проводилось с помощью ПЦР-амплификации ДНК. Геномную ДНК выделяли из образцов биоптатов уха методом щелочного лизиса. Мультиплексную ПЦР проводили с использованием готовой смеси BiolabMix (Россия), содержащей Hot Start Taq-полимеразу, и трех специфических праймеров (TAAR1F, TAAR1R, NEOF2) для одновременной детекции дикого и нокаутного типа аллелей. Далее продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2%-ном

агарозном геле и по длине фрагментов определяли генотип. Последовательности праймеров: TAAR1-F: 5'-CAG TTAATAACCTTGGGAGTATTC-3'; TAAR1-R2: 5'-CAAT GCTTCTCCAGAACTCATAGTC-3'; NeoF2: 5'-ATCGCCTTCTTGACGAGTTC-3'.

После хирургических манипуляций мыши содержались индивидуально, в стандартных условиях вивария с искусственным освещением с 09:00 до 21:00, влажностью в пределах 35–70% и температурой 21 °С. Еда и вода предоставлялись в полном объеме, а все тесты проводились в период с 10.00 и заканчивались в 19.00.

Моделирование травмы спинного мозга. Травму спинного мозга моделировали путем латеральной гемисекции на уровне позвонка T8, что соответствует сегментам T10–T11 [15]. Все хирургические процедуры выполняли в асептических условиях под изофлурановой анестезией (1–2% в смеси с кислородом, скорость потока 0.8 л/мин). После рассечения кожи и мышц над позвонками T7–T9 идентифицировали позвонок T8 по характерной форме соседних позвонков и путем подсчета от крепления нижних ребер. Затем выполняли ламинэктомию между T7 и T8 и производили левостороннюю латеральную гемисекцию с помощью микроскальпеля. Для группы ложнооперированных животных (Sham) проводились те же манипуляции, за исключением рассечения спинного мозга. Мышцы и кожу ушивали шовным материалом Vicryl 6 и Ethilon 6 соответственно. В послеоперационном периоде для обезболивания применяли кеторолак (1 мг/кг, подкожно) каждые 12 ч в течение первых 3 суток.

Оценка сенсомоторной координации после TCM. Для исследования восстановления моторной координации после TCM использовался тест Баланс бим (Balance beam). Установка для проведения тестирования представляла собой круглую рейку (диаметр 15 мм, длина 1 м), приподнятую над полом на высоту 80 см, на одном конце которой располагалось “укрытие” (затемненная камера). Во время тестирования животное помещалось на начало рейки носом в сторону укрытия. Исследование проводилось на предварительно обученных и габитуированных животных. Для каждого животного регистрировалось 3 попытки прохождения от дальнего края до темной камеры, по результатам которых вычислялись средние значения. Были проанализированы время, необходимое животному для прохождения рейки, и количество соскальзываний левой и правой задней конечности. Из анализа исключались мыши без гистологически и фенотипически валидированной латеральной гемисекции: TAAR1-WT ($n = 8$) и TAAR1-КО ($n = 10$), представлены результаты до и после TCM. Для обработки полученных видеозаписей и вычисления параметров использовалось ПО RealTimer. Статистический анализ проводился в ПО GraphPad Prism 10 с применением иерархического однофакторного дисперсионного анализа с поправкой Сидака на множественные сравнения (Nested one-way ANOVA, post-hoc Šidák's multiple comparisons test).

Морфологические методы исследования. Забор материала проводили через 8 недель после TCM или ложной операции (Sham) под общей анестезией (золетил 200 мг/кг + ксилазин 2 мг/кг, в/б) методом транскраниальной перфузии раствором фосфатно-солевого буфера (0.1M PBS, 0.9%-ный раствор NaCl), с последующей фиксацией 10%-ным нейтральным забуференным формалином (BioVitrum). Головной и спинной мозг после диссекции дополнительно выдерживались в формалине для дополнительной фиксации. Затем материал подвергался стандартной гистологической проводке через серию растворов Изопрепа возрастающей концентрации с последующим заключением в парафиновые блоки. На ротационном микротоме были изготовлены серии фронтальных срезов (толщиной 7 мкм) спинного мозга в зоне гемисекции и головного мозга на уровне соматосенсорной коры. Срезы головного мозга использовались для дальнейшего иммуногистохимического окрашивания с применением маркеров для выявления клеток астроцитной глии (GFAP), провоспалительной астроцитной глии (S100 β) и микроглии (Iba-1). Срезы спинного мозга были окрашены по Ниссля и использовались для валидации уровня и степени гемисекции.

Иммуногистохимия. После депарафинизации и регидратации проводилась демаскировка антигена в цитратном буфере (pH 6.0, 85 °C, 30 мин). Затем осуществлялись блокировка эндогенной пероксидазы в 3%-ном растворе H_2O_2 (10 мин) и связывание неспецифических сайтов в растворе 2%-ного BSA в PBS (с добавлением 1% Тритона X) в течение 1 ч. Далее для иммуноокрашивания проводилась инкубация с первичными антителами (12 ч, 4 °C) против GFAP (1 : 1000 invitrogen, thermofisher, США Cat#14-9892-82), S100 β (1 : 1000, invitrogen, thermofisher, США, Cat#MA1-26621) и iba-1 (1 : 1000, FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Япония, Cat#019-19741). Вторичная детекция осуществлялась с помощью набора PrimeVision IgG – mouse/rabbit – HRP/DAB в соответствии с инструкцией производителя. В качестве контрокрашивания и для выявления слоев коры срезы дополнительно окрашивали раствором гематоксилина (BioVitrum). В исследовании оценивалось от 8 до 20 полей зрения срезов, полученных от мышей после SCI TAAR1-WT ($n = 5$) и TAAR1-KO ($n = 5$) и от ложнопериоперированных (Sham) мышей TAAR1-WT ($n = 5$) и TAAR1-KO ($n = 5$). Статистический анализ проводился в ПО GraphPad Prism 10 с применением иерархического однофакторного дисперсионного анализа с поправкой Сидака на множественные сравнения (Nested one-way ANOVA, post-hoc Šidák's multiple comparisons test).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты теста Balance Beam показали значительное увеличение времени прохождения рейки после травмы спинного мозга в обеих группах (рис. 1). При этом между группами с различным генотипом не наблюдалось различий независимо от наличия TCM. В группе TAAR1-WT возросло время прохождения рейки после TCM: с 4.32 ± 1.29 до 20.07 ± 4.67 с ($p < 0.0001$), а в группе TAAR1-KO – с 5.61 ± 1.55 до 17.40 ± 3.67 с ($p = 0.02$). Количество соскальзываний левой лапы также увеличилось после травмы: в группе TAAR1-WT с 0.17 ± 0.25 до 9.38 ± 3.07 ($p = 0.0004$), а в группе TAAR1-KO – с 0.43 ± 0.27 до 9.97 ± 2.76 ($p = 0.002$). Аналогичная динамика наблюдалась для соскальзываний правой лапы: в группе TAAR1-WT показатели увеличились с 0.46 ± 0.31 до 3.52 ± 1.23 ($p = 0.0066$), а в группе TAAR1-KO – с 0.40 ± 0.41 до 3.97 ± 2.03 ($p = 0.0003$). Количество соскальзываний конечности ожидаемо было выше на ипсилатеральной (левой) стороне от повреждения. Полученные данные свидетельствуют о том, что отсутствие TAAR1 не оказывает существенного влияния на моторную координацию и ее восстановление в данной модели травмы спинного мозга, несмотря на наблюдаемую тенденцию к более быстрому прохождению теста в группе TAAR1-KO. Отсутствие значимых различий в количестве ошибок как на стороне повреждения, так и на противоположной стороне может указывать на сохранность компенсаторных механизмов двигательного контроля независимо от статуса TAAR1.

Для проведения сравнительного анализа был использован многоуровневый иерархический однофакторный дисперсионный анализ (nested one-way ANOVA). У ложнопериоперированных животных генотип не влиял на плотность GFAP⁺-клеток в коре головного мозга (рис. 2). Однако после TCM практически во всех слоях коры показана большая плотность GFAP⁺-клеток у мышей TAAR1-KO. Так, в молекулярном слое не было обнаружено статистически значимых различий, обусловленных генотипом (Sham TAAR1-WT: 156.4 ± 54.57 и Sham TAAR1-KO: 108.8 ± 25.69 ; SCI TAAR1-WT: 236.0 ± 88.56 и SCI TAAR1-KO: 432.9 ± 199.7 кл/мм²). В наружном гранулярном слое плотность GFAP⁺-клеток после TCM в группе TAAR1-KO была достоверно выше ($p = 0.002$), чем в группе TAAR1-WT (Sham TAAR1-WT: 56.18 ± 13.77 и Sham TAAR1-KO: 29.45 ± 12.66 ; SCI TAAR1-WT: 107.6 ± 35.70 и SCI TAAR1-KO: 332.2 ± 160.9 кл/мм²). Аналогичная закономерность наблюдалась в наружном пирамидном слое (Sham TAAR1-WT: 12.14 ± 10.31 и Sham TAAR1-KO: 23.73 ± 9.14 ; SCI TAAR1-WT: 94.23 ± 27.29 и SCI

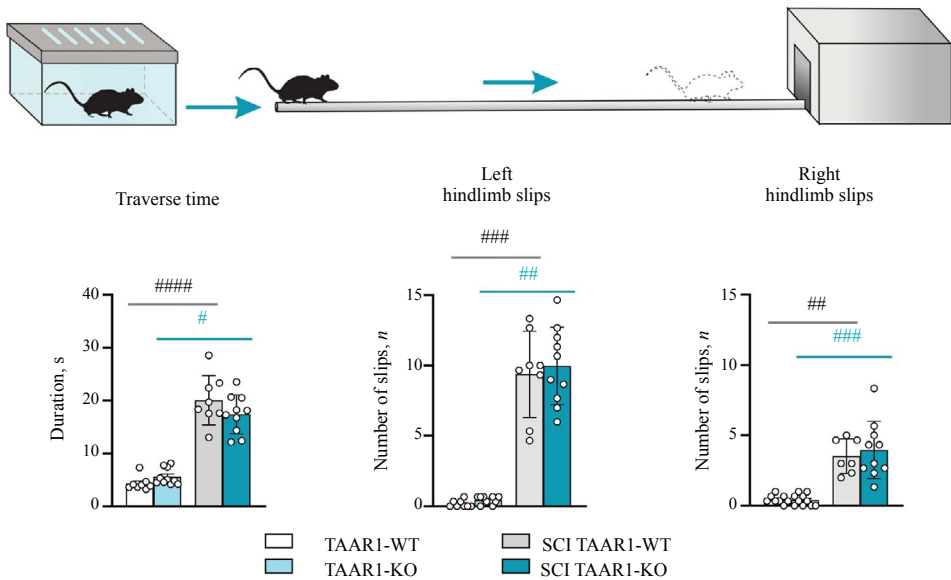


Рис. 1. Оценка сенсомоторного восстановления в тесте Balance Beam. Показано время прохождения и количество соскальзываний левой и правой конечностей после травмы спинного мозга. Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение. Иерархический однофакторный дисперсионный анализ, апостериорное множественное сравнение с поправкой Сидака; # – $p < 0.05$, ## – $p < 0.01$, ### – $p < 0.001$, #### – $p < 0.0001$ между ложноперирированными (Sham) и с травмой спинного мозга (SCI) внутри генотипа (серый – между TAAR1-WT, голубой – между TAAR1-KO).

TAAR1-KO: 319.9 ± 140.8 кл/мм²; $p = 0.0001$), внутреннем гранулярном слое (Sham TAAR1-WT: 20.94 ± 2.73 и Sham TAAR1-KO: 14.13 ± 9.85 ; SCI TAAR1-WT: 100.6 ± 27.9 и SCI TAAR1-KO: 296.4 ± 152.8 кл/мм²; $p = 0.01$) и внутреннем пирамидном слое (Sham TAAR1-WT: 23.64 ± 9.13 и Sham TAAR1-KO: 16.72 ± 5.86 ; SCI TAAR1-WT: 95.27 ± 28.85 и SCI TAAR1-KO: 285.2 ± 160.0 кл/мм²; $p = 0.01$). В полиморфном слое увеличение плотности GFAP⁺-клеток было несколько менее выраженным (Sham TAAR1-WT: 76.75 ± 20.62 и Sham TAAR1-KO: 86.69 ± 33.03 ; SCI TAAR1-WT: 192.8 ± 89.63 и SCI TAAR1-KO: 386.8 ± 205.0 кл/мм²; $p = 0.05$). Вместе с тем было показано, что TCM вызывает статистически значимое увеличение GFAP⁺-клеток только у мышей с нокаутом, гена, кодирующего TAAR1, во всех исследованных слоях коры от молекулярного до полиморфного ($p = 0.002$; $p < 0.0001$; $p < 0.0001$; $p = 0.0003$; $p = 0.0005$; $p = 0.002$ соответственно).

Влияние TAAR1 на плотность S100 β ⁺-клеток не обнаружено (рис. 3). Так, в молекулярном слое (Sham TAAR1-WT: 254.3 ± 49.3 и Sham TAAR1-KO: 237.9 ± 16.8 ; SCI TAAR1-WT: 639.0 ± 292.8 и SCI TAAR1-KO: 604.4 ± 91.6 кл/мм²), наружном гранулярном слое (Sham TAAR1-WT: 174.0 ± 21.23 и Sham TAAR1-KO: 135.0 ± 36.5 ; SCI TAAR1-WT: 518.8 ± 205.1 и SCI TAAR1-KO: 593.1 ± 63.9 кл/мм²), наружном пирамидном слое (Sham TAAR1-WT: 163.6 ± 70.2 и Sham TAAR1-KO: 149.9 ± 21.4 ; SCI TAAR1-WT: 608.6 ± 269.5 и SCI TAAR1-KO: 630.9 ± 55.7 кл/мм²) не было различий между генотипами. При этом во всех случаях наблюдалось достоверное увеличение плотности S100 β ⁺-клеток у мышей с травмой по сравнению с ложноперирированными группами ($p < 0.005$). Наибольшие различия между группами с травмой и контролем отмечались в наружном гранулярном слое (Sham TAAR1-WT vs SCI TAAR1-WT, $p = 0.0006$; Sham TAAR1-KO vs SCI TAAR1-KO, $p < 0.0001$) и внутреннем

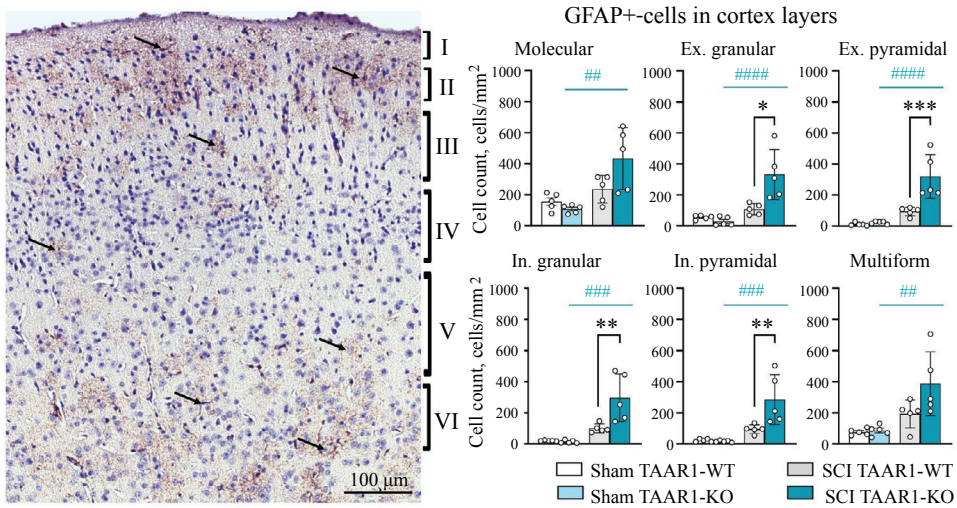


Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание GFAP⁺ зрелых астроцитов с контрастированием гематоксилином в соматосенсорной коре головного мозга мыши после травмы спинного мозга, увеличение $\times 200$. Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение. Иерархический однофакторный дисперсионный анализ, апостериорное множественное сравнение с поправкой Сидака, # – $p < 0.01$, ## – $p < 0.001$, ### – $p < 0.0001$ между ложнооперированными (Sham) и с травмой спинного мозга (SCI) внутри генотипа (серый – между TAAR1-WT, голубой – между TAAR1-KO), * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ между генотипами TAAR1-WT и TAAR1-KO.

пирамидном слое (Sham TAAR1-WT vs SCI TAAR1-WT $p < 0.0001$; Sham TAAR1-KO vs SCI TAAR1-KO, $p < 0.0001$). Во внутреннем гранулярном слое наблюдались следующие показатели: Sham TAAR1-WT: 179.4 ± 85.5 и Sham TAAR1-KO: 199.6 ± 36.2 ; SCI TAAR1-WT: 575.7 ± 222.9 и SCI TAAR1-KO: 597.7 ± 84.5 кл/мм², при этом травма спинного мозга вызывала достоверное увеличение показателей как в группе WT ($p = 0.0005$), так и в группе KO ($p = 0.0003$). Во внутреннем пирамидном слое значения составили: Sham TAAR1-WT: 134.9 ± 63.6 и Sham TAAR1-KO: 158.5 ± 31.9 ; SCI TAAR1-WT: 535.2 ± 169.4 и SCI TAAR1-KO: 511.2 ± 40.2 кл/мм², с выраженным эффектом травмы в обеих группах (Sham TAAR1-WT vs SCI TAAR1-WT: $p < 0.0001$; Sham TAAR1-KO vs SCI TAAR1-KO: $p < 0.0001$). В полиморфном слое данные распределились следующим образом: Sham TAAR1-WT: 175.4 ± 46.6 и Sham TAAR1-KO: 202.0 ± 26.2 ; SCI TAAR1-WT: 512.0 ± 119.7 и SCI TAAR1-KO: 506.1 ± 67.5 кл/мм², при этом травматическое воздействие приводило к значительному росту показателей (Sham TAAR1-WT vs SCI TAAR1-WT: $p < 0.0001$; Sham TAAR1-KO vs SCI TAAR1-KO: $p < 0.0001$). Полученные результаты свидетельствуют о выраженном влиянии TCM на все исследуемые слои коры, но не выявляют значимых различий между животными с разными генотипами.

Плотность микроглиальных Iba-1⁺-клеток также была оценена у мышей с нокаутом гена, кодирующего TAAR1 и дикого типа (рис. 4). После TCM в молекулярном слое плотность клеток в группе TAAR1-KO (168.2 ± 65.5 кл/мм²) была достоверно ниже, чем в группе TAAR1-WT (268.4 ± 42.9 кл/мм²; $p = 0.02$), тогда как у ложнооперированных животных таких отличий не было (Sham TAAR1-WT: 147.4 ± 24.6 ; Sham TAAR1-KO: 129.2 ± 42.5). В наружном гранулярном слое не было обнаружено статистически значимых различий между группами как после TCM, так и у ложнооперированных животных (Sham TAAR1-WT: 154.1 ± 46.9 и Sham TAAR1-KO: 138.8 ± 33.8 ;

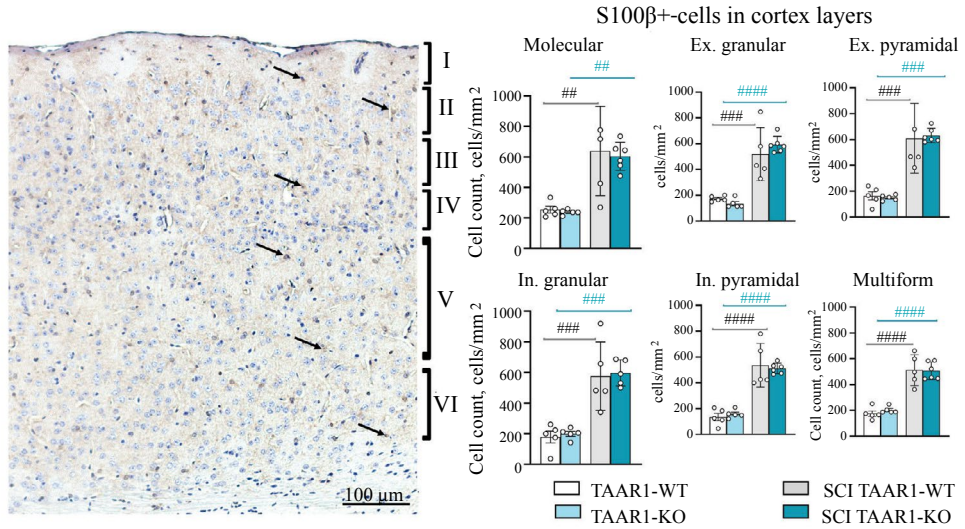


Рис. 3. Иммуногистохимическое окрашивание S100β⁺ клеток астроцитарной глии с контрастированием гематоксилином в соматосенсорной коре головного мозга мыши после травмы спинного мозга, увеличение ×200. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение. Иерархический однофакторный дисперсионный анализ, апостериорное множественное сравнение с поправкой Сидака, ## – $p < 0.01$, ### – $p < 0.001$, #### – $p < 0.0001$ между ложнооперированными (Sham) и с травмой спинного мозга (SCI) внутри генотипа (серый – между TAAR1-WT, голубой – между TAAR1-KO).

SCI TAAR1-WT: 240.5 ± 42.5 и SCI TAAR1-KO: 201.0 ± 58.3 кл/мм²). В наружном пирамидном слое (Sham TAAR1-WT: 110.0 ± 51.2 и Sham TAAR1-KO: 113.2 ± 29.3 ; SCI TAAR1-WT: 252.8 ± 46.7 и SCI TAAR1-KO: 172.7 ± 42.8 кл/мм²), во внутреннем гранулярном (Sham TAAR1-WT: 89.30 ± 68.4 и Sham TAAR1-KO: 130.7 ± 30.6 ; SCI TAAR1-WT: 268.6 ± 43.9 и SCI TAAR1-KO: 166.6 ± 42.2 кл/мм²) и во внутреннем пирамидном (Sham TAAR1-WT: 96.9 ± 62.6 и Sham TAAR1-KO: 126.7 ± 32.4 ; SCI TAAR1-WT: 263.2 ± 61.9 и SCI TAAR1-KO: 171.0 ± 55.7 кл/мм²) слоях плотность Iba-1⁺-клеток после TCM была значимо снижена у мышей TAAR1-KO по сравнению с диким типом ($p = 0.04$; $p = 0.02$ и $p = 0.05$ соответственно), тогда как у ложнооперированных мышей отличий между генотипами не зарегистрировано. В полиморфном слое коры статистически значимых различий между группами не выявлено (Sham TAAR1-WT: 75.2 ± 62.7 и Sham TAAR1-KO: 121.5 ± 31.8 ; SCI TAAR1-WT: 240.7 ± 65.9 и SCI TAAR1-KO: 171.3 ± 55.2 кл/мм²). Однако TCM только у животных дикого типа вызывает статистически значимое увеличение плотности Iba-1⁺-клеток во всех слоях коры: в молекулярном ($p = 0.005$), наружном гранулярном ($p = 0.04$), наружном пирамидном ($p = 0.0003$), внутреннем гранулярном ($p < 0.0001$), внутреннем пирамидном ($p < 0.001$) и полиморфном ($p < 0.001$) слоях коры.

Кроме того, было проанализировано количество пирамидных нейронов (рис. 5). В наружном пирамидном слое не было выявлено статистически значимых различий в количестве нейронов между группами как у ложнооперированных животных, так и после TCM (Sham TAAR1-WT: 501.8 ± 94.1 и Sham TAAR1-KO: 456.9 ± 110.6 ; SCI TAAR1-WT: 656.4 ± 279.3 кл/мм² и TAAR1-KO: 446.1 ± 75.4 кл/мм²). Во внутреннем пирамидном слое после TCM количество нейронов у мышей TAAR1-KO было достоверно ниже по сравнению с группой TAAR1-WT (TAAR1-WT: 392.5 ± 76.7 кл/мм²; TAAR1-KO: 282.2 ± 53.1 кл/мм²; $p = 0.03$), в то время как у ложнооперированных животных различий между генотипами не наблюдалось (Sham TAAR1-WT: 416.7 ± 48.5 ; Sham TAAR1-KO:

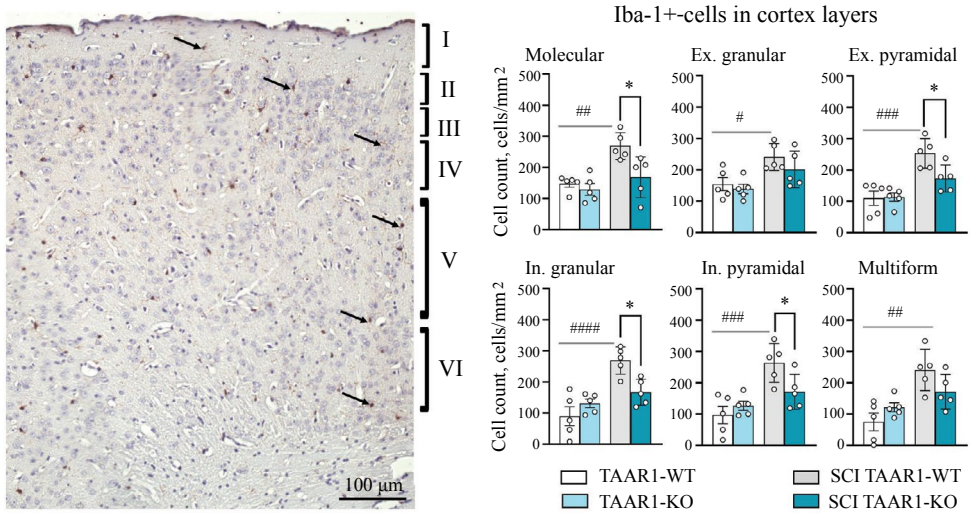


Рис. 4. Иммуногистохимическое окрашивание Iba-1+ клеток микроглии с контрастированием гематоксилином в соматосенсорной коре головного мозга мыши после травмы спинного мозга, увеличение $\times 200$. Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение. Иерархический однофакторный дисперсионный анализ, апостериорное множественное сравнение с поправкой Сидака, ## $- p < 0.01$, ### $- p < 0.001$, #### $- p < 0.0001$ между ложнопериованными (Sham) и с травмой спинного мозга (SCI) внутри генотипа (серый – между TAAR1-WT, голубой – между TAAR1-KO), * $- p < 0.05$, ** $- p < 0.01$, *** $- p < 0.001$ между генотипами TAAR1-WT и TAAR1-KO.

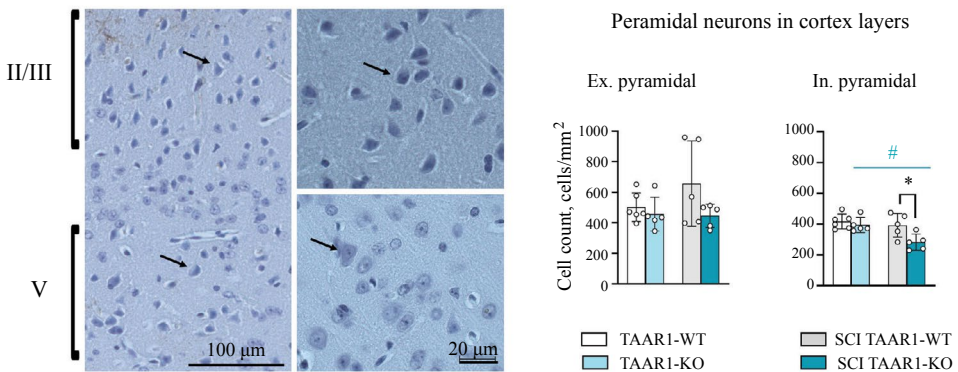


Рис. 5. Пирамидные клетки наружного и внутреннего пирамидных слоев соматосенсорной коры головного мозга у ложнопериованных (Sham) животных и после травмы спинного мозга (SCI), окраска гематоксилином, увеличение $\times 200$ на фото слева, $\times 1000$ на фото справа. Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение. Иерархический однофакторный дисперсионный анализ, апостериорное множественное сравнение с поправкой Сидака, # $- p < 0.05$ между ложнопериованными (Sham) и с травмой спинного мозга (SCI) внутри генотипа (серый – между TAAR1-WT, голубой – между TAAR1-KO), * $- p < 0.05$ между генотипами TAAR1-WT и TAAR1-KO.

394.6 \pm 48.6). Вместе с тем интересно отметить снижение количества нейронов во внутреннем пирамидном слое именно у TAAR1-KO мышей, вызванное TCM ($p = 0.03$).

Таким образом, нокаут TAAR1 приводит к значительному увеличению плотности GFAP⁺-астроцитов в большинстве слоев коры, не влияя на распределение

S100 β ⁺-клеток, вызывает снижение плотности микроглиальных Iba-1⁺-клеток и снижение количества нейронов в пирамидном слое, что свидетельствует о селективном воздействии TAAR1 на глиальные популяции и выживаемость нейронов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

TSM вызывает структурную перестройку соматосенсорной коры уже на 3-й день после травмы [16], а также атрофию серого вещества и гибель нейронов [17]. Параллельно с этими процессами происходит развитие воспаления в других отделах головного мозга за счет распространения провоспалительных цитокинов, следствием чего является активация клеток микро- и макроглии [18, 19]. Клетки микроглии и астроцитарной макроглии претерпевают значительные изменения в плотности и морфологии, становясь реактивными. Эта активация влияет на их функции, способствуя воспалительной реакции [19]. Известно, что рецептор TAAR1 модулирует не только высвобождение нейротрансмиттеров, но и воспалительные процессы [13]. В первую очередь это связано с его экспрессией во множестве клеток, ассоциированных с иммунным ответом: периферических мононуклеарных клетках, В-лимфоцитах, Т-лимфоцитах, полиморфоядерных нейтрофилах, моноцитах, макрофагах, NK-клетках [20, 21], а также в клетках микроглии [22] и астроцитах [23], и может влиять на их активность [24]. Подобный широкий уровень экспрессии в клетках иммунной и нервной систем указывает на TAAR1 как на потенциальную точку интеграции глиальных, нейрональных и иммунных механизмов воспаления [23, 25, 26].

В данной статье мы исследовали влияние TAAR1 как на функциональное восстановление, так и на нейрональные и глиальные реакции в коре головного мозга мышей после TSM. Астроциты являются ключевыми глиальными клетками ЦНС. Их функции разнообразны: от регулирования нейротрансмиттеров и ионного гомеостаза до участия в иммунных реакциях и образовании рубцов [27, 28]. В контексте травм нервной системы, таких как черепно-мозговая травма (ЧМТ) и повреждение спинного мозга, астроциты претерпевают значительные изменения, включая реактивный астроглиоз, который может оказывать как защитное, так и негативное действие [29]. Результаты нашего исследования демонстрируют вовлеченность TAAR1 в модуляцию астроцитарного ответа в коре головного мозга после TSM. Для идентификации клеток зрелых астроцитов мы использовали антитела к глиальному фибриллярному кислому белку (GFAP), который является белком промежуточных филаментов, участвующих в образовании цитоскелета и клеточной адгезии [30]. Наши данные свидетельствуют о том, что TSM приводит к значительному увеличению плотности GFAP⁺-астроцитов во всех слоях коры (особенно в II–IV) у мышей с нокаутом гена *taar1* во всех слоях коры больших полушарий (рис. 2), что указывает на развитие астроглиоза и нейровоспаления [31, 32]. Схожие процессы наблюдались и у TAAR1-WT, однако были менее выражены. Таким образом, отсутствие TAAR1 приводит к усилению активации астроцитарного ответа, что согласуется с ранее описанной ролью этого рецептора в регуляции воспалительных процессов [13]. Само по себе увеличение плотности астроцитов в коре головного мозга у нокаутных животных может отражать как компенсаторные пластические изменения, так и патологическую активацию нейровоспалительных процессов. Это соответствует современным представлениям о двунаправленности роли астроцитарного ответа при повреждениях ЦНС [28, 33]. Также усиление астроглиоза в коре больших полушарий у TAAR1-KO может быть связано с влиянием отсутствия TAAR1 на инфильтрацию Т-лимфоцитами в головной мозг. Известно, что TAAR1 экспрессируются в лейкоцитах [20], а СА воздействуют на их хемотаксис [26]. Его активация в Т- и В-лимфоцитах повышает синтез лимфоцитами противовоспалительных молекул. Отсутствие TAAR1 в Т-лимфоцитах может привести к снижению их инфильтрации в головной мозг и,

как следствие, к усилению GFAP-астроглиоза [34]. Особенно выраженные изменения наблюдались в гранулярных и пирамидных слоях, что, вероятно, может являться следствием их повышенной чувствительности к нейровоспалительным изменениям при травме или быть связано с их функциональными особенностями. Зернистые слои отвечают за обработку проприоцептивной, тактильной, болевой чувствительности, а пирамидные слои отвечают за инициацию и поддержание движения. Именно эти функции в первую очередь и нарушаются при ТСМ. Кроме того, в этих слоях содержатся интернейроны, которые участвуют в объединении, модуляции и трансдукции сигналов в различные зоны коры, в том числе моторную [35]. Из-за патологической пластичности и процессов нейровоспаления данные слои постепенно перестраиваются, изменяясь морфологически и функционально [36–38].

Наше исследование выявило, что плотность S100b⁺-клеток после ТСМ увеличивается во всех слоях как у группы дикого типа, так и у TAAR1-KO, что согласуется с устоявшимися представлениями о связи повышенной экспрессии S100b с развивающимся нейровоспалением [39]. При этом у групп Sham и SCI плотность S100b⁺-клеток была выше, чем плотность GFAP⁺-клеток во всех слоях соматосенсорной коры, что согласуется с литературными данными [40]. Несмотря на то, что антитела к GFAP служат универсальным маркером астроцитов [30], не весь пул клеток астроцитарной макроглии ими выявляется. Известно, что существуют Olig-2-позитивные астроциты, не экспрессирующие GFAP, которые широко распространены, например, в базальных отделах переднего мозга, ядрах таламуса и ядрах мозжечка. Более того, данные клетки, как правило, занимают взаимоисключающую территорию и, возможно, отличаются по функциям [41]. В то же время S100b – не строго специфичный маркер астроцитов – может экспрессироваться в олигодендроцитах и нейронах [42], однако вместе с тем используется в качестве маркера активированных астроцитов, а высокий уровень экспрессии данного белка служит показателем нейрональной смерти и нейродегенерации [43]. TAAR1 не оказывает существенного влияния на количество S100b⁺-клеток как у Sham, так и у группы с ТСМ, а модулирует преимущественно популяцию астроцитов, экспрессирующих глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP). Данное наблюдение согласуется с концепцией о различной роли этих клеточных популяций в нейровоспалительном ответе [33] и может объясняться как длительным периодом восстановления (8 недель), так и отсутствием связи S100b⁺-астроцитов с TAAR1. Также стоит учесть, что на особенности нейровоспаления может влиять не только регион-специфическое распределение подтипов астроцитов [44], но и особенности региональной проницаемости ГЭБ в головном мозге [45]. То есть эффект TAAR1 на нейровоспаление может варьироваться в зависимости от рассматриваемой структуры головного мозга.

Особого внимания заслуживает микроглиальный ответ, показанный в данной работе: было продемонстрировано, что, несмотря на сильную микроглиальную активацию у TAAR1-WT, характерную после ТСМ [46], у животных с нокаутом TAAR1 наблюдалась меньшая плотность Iba-1⁺-клеток во внутренних слоях коры. Микроглиальные клетки, являясь резидентными макрофагами нервной системы, реагируют самыми первыми на распространение процесса воспаления и способны менять свой фенотип на провоспалительный (M1) или противовоспалительный (M2) [47]. TAAR1 являются сильными модуляторами, которые способны регулировать клеточную активацию через рецепторы к другим моноaminaм, например к дофамину и серотонину, образуя комплексы рецепторов TAAR1-D1R [25], или через D2-рецептор (DRD2) [48]. В работе Sun с соавт. было показано, что у мышей TAAR1^{-/-} была снижена экспрессия DRD1 а также 5HT2A и 5HT2c в медиальной префронтальной коре [25], что может объяснять снижение функциональной активности микроглиальных клеток в нокаутной группе. Активация дофаминовых рецепторов на клетках микроглии приводит к снижению воспалительного ответа, ингибированию сборки NLP3-инфламмосомы и снижению секреции провоспалительного цитокина IL-1β [49, 50]. Резидентная микроглия

в норме регулирует нейрональную пластичность посредством удаления малоактивных синаптических связей. Ее активация и процесс воспаления приводят к структурной перестройке серого вещества, изменению синаптических связей между нейронами и, как следствие, изменению их функциональной активности [51]. Отсутствие рецептора TAAR1 и модуляция рецепторов к моноаминам в 4- и 5-й слоях коры, где происходит интеграция и модуляция сенсорной и моторной информации [52], вероятно, приводят к тому, что снижение количества микроглиальных элементов происходит быстрее у мышей с нокаутом TAAR1. Так, отмечается снижение интенсивности флуоресцентного свечения Iba⁺ клеток в коре головного мозга уже через 2 недели после ЧМТ методом окклюзии средней мозговой артерии [53]. Схожие процессы наблюдаются и в спинном мозге крыс при TCM, но через 4 недели [54].

Помимо глиальных изменений, нами также было отмечено снижение количества пирамидных нейронов в 3-м и 5-м слоях коры, вызванное TCM, у мышей TAAR1-KO как в сравнении с диким типом, так и в сравнении с Sham, что, по-видимому, свидетельствует об усиленных процессах нейрональной гибели именно у мышей без рецептора TAAR1. У мышей дикого типа снижения количества пирамидных нейронов вследствие TCM не наблюдается. Литературные данные о гибели моторных и сенсорных нейронов вследствие TCM несколько противоречивы [31, 55]. Кроме того, TCM также вызывает уменьшение объема тел нейронов и снижение плотности синапсов [9, 56]. Причем изменения в коре происходят билатерально [57], и затрагиваются многие другие связанные структуры [58]. Одним из возможных механизмов таких удаленных от места травмы поражений является накопление ионов железа, вызванное увеличением уровня реактивных форм кислорода и перекисного окисления липидов, что приводит к ферроптозу [59]. Другой механизм может быть связан с таупатией и эксайтотоксичностью. Показано, что при TCM наблюдается накопление *цис*-конформера pThr231-tau, ассоциированного с высокой степенью нейротоксичности [60]. Кроме того, TAAR1 может препятствовать апоптозу, вызванному митохондриальным и ретикулярным стрессом в дофаминергических нейронах среднего мозга путем увеличения ингибирующего апоптоз белка Bcl-2 и фосфорилирования ERK1/2 [61]. Таким образом, отсутствие снижения числа нейронов в группе TAAR1-WT после TCM может быть связано с активированным Bcl-2 и контролем эксайтотоксичности, а обнаруженное уменьшение плотности пирамидальных нейронов у TAAR1-KO связано с отсутствием TAAR1-опосредованной нейропротекции. Нейропротекторное действие TAAR1 также подтверждается и в работе, описывающей прокогнитивный эффект его агонистов [62].

В недавнем исследовании было показано, что TAAR1 обладает нейропротекторными свойствами именно в условиях повреждающего фактора [63], что согласуется с нашими результатами. Так, отсутствие TAAR1 у мышей TAAR1-KO приводило к усилению нейротоксических эффектов, таких как снижение уровней дофамина и тирозингидроксилазы и повышение экспрессии GFAP в стриатуме в модели метамфетамин-индуцированной нейротоксичности [63]. При этом базальные уровни всех этих маркеров не отличались.

Важно отметить, что наблюдаемые в нашем исследовании морфологические изменения не сопровождались значимыми различиями в функциональном восстановлении сенсоромоторных функций, что может объясняться либо компенсаторными механизмами, либо недостаточной чувствительностью использованных тестов для выявления тонких неврологических нарушений.

Перспективным направлением дальнейших исследований могло бы стать изучение молекулярных механизмов TAAR1-опосредованной регуляции астроцитарной активности и его участия в нейротоксическом ответе, а также оценка терапевтического потенциала TAAR1-агонистов для модуляции нейровоспалительного ответа при TCM. Полученные данные подчеркивают важность TAAR1 как потенциальной мишени для нейропротективных стратегий при повреждениях ЦНС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование демонстрирует вовлеченность TAAR1 в модуляцию нейровоспалительных и нейродегенеративных процессов, возникающих в коре головного мозга после TCM. Важно отметить, что в отсутствие травмы генотипические различия между TAAR1-KO и TAAR1-WT мышами не выявлены, что указывает на специфическую роль данного рецептора именно в контексте повреждения тканей нервной системы. Полученные данные свидетельствуют о том, что отсутствие TAAR1 приводит к усилению астроглиоза, снижению микроглиальной активации и снижению плотности пирамидных нейронов, что свидетельствует о его нейропротективном потенциале. При этом наблюдаемые структурные изменения не сопровождались значимыми функциональными нарушениями, что может указывать на компенсаторные механизмы или ограниченную чувствительность поведенческих тестов. Результаты работы подтверждают, что TAAR1 служит важным звеном в интеграции глиальных, нейрональных и иммунных реакций при повреждениях ЦНС, по-видимому, модулируя воспалительный ответ и способствуя сохранению нейрональных популяций. Выявленные особенности TAAR1-зависимой регуляции астроцитарной и микроглиальной плотности открывают новые перспективы для разработки терапевтических стратегий, направленных на коррекцию нейровоспаления и нейродегенерации при травмах нервной системы. Дальнейшие исследования молекулярных механизмов TAAR1-опосредованной нейропротекции, а также оценка эффективности его агонистов могут способствовать развитию таргетных подходов в лечении последствий повреждений спинного и головного мозга.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Ресурсному центру “Виварий” Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета (г. Санкт-Петербург, Россия) и Ресурсному центру клеточных технологий и иммунологии Научно-технологического университета “Сириус” за предоставление необходимой материально-технической базы для проведения данного исследования.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Д. С. К., П. Е. М.), проведение экспериментов, анализ экспериментальных данных (Д. С. К., А. А. Ч., Д. В. Х., Е. А. Р., А. Д. Б., С. И. М., С. П. К.), проведение хирургических манипуляций (П. Ю. Ш., Н. В. П.), генотипирование животных (А. Д. Б.), написание манускрипта (Д. С. К., А. А. Ч., Д. В. Х.), итоговое редактирование статьи (Д. С. К., Р. Р. Г., П. Е. М.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда № 24-15-20036, <https://rscf.ru/project/24-15-20036/> (гистологические работы) и Санкт-Петербургского государственного университета (проект № 125022102790-5 – работа с животными и ID: 129659216 – генотипирование).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными (Директива 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г.) и были одобрены Этическим комитетом в области исследований на животных Санкт-Петербургского государственного университета, протокол № 131-03-14 от 23 сентября 2024 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ahuja CS, Wilson JR, Nori S, Kotter MRN, Druschel C, Curt A, Fehlings MG* (2017) Traumatic spinal cord injury. *Nat Rev Dis Primers* 3: 17018. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.18>
2. *Sun X, Jones ZB, Chen X, Zhou L, So K-F, Ren Y* (2016) Multiple organ dysfunction and systemic inflammation after spinal cord injury: A complex relationship. *J Neuroinflammat* 13. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0736-y>
3. *Arevalo-Martin A, Grassner L, Garcia-Ovejero D, Paniagua-Torija B, Barroso-Garcia G, Arandilla AG, Mach O, Turrero A, Vargas E, Alcobendas M, Rosell C, Alcaraz MA, Ceruelo S, Casado R, Talavera F, Palazón R, Sanchez-Blanco N, Maier D, Esclarin A, Molina-Holgado E* (2018) Elevated Autoantibodies in Subacute Human Spinal Cord Injury Are Naturally Occurring Antibodies. *Front Immunol* 9: 2365. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02365>
4. *Sterner RC, Sterner RM* (2023) Immune response following traumatic spinal cord injury: Pathophysiology and therapies. *Front Immunol* 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1084101>
5. *Rowe CJ, Nwaolu U, Martin L, Huang BJ, Mang J, Salinas D, Schlaff CD, Ghenbot S, Lansford JL, Potter BK, Schobel SA, Gann ER, Davis TA* (2024) Systemic inflammation following traumatic injury and its impact on neuroinflammatory gene expression in the rodent brain. *J Neuroinflammat* 21. <https://doi.org/10.1186/s12974-024-03205-5>
6. *Frith C, Dolan R* (1996) The role of the prefrontal cortex in higher cognitive functions. *Cognitiv Brain Res* 5: 175–181. [https://doi.org/10.1016/S0926-6410\(96\)00054-7](https://doi.org/10.1016/S0926-6410(96)00054-7)
7. *Krishnan VS, Shin SS, Belegu V, Celnik P, Reimers M, Smith KR, Pelled G* (2019) Multimodal Evaluation of TMS – Induced Somatosensory Plasticity and Behavioral Recovery in Rats With Contusion Spinal Cord Injury. *Front Neurosci* 13387. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00387>
8. *Ghosh A, Peduzzi S, Snyder M, Schneider R, Starkey M, Schwab ME* (2012) Heterogeneous Spine Loss in Layer 5 Cortical Neurons after Spinal Cord Injury. *Cerebral Cortex* 22: 1309–1317. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhr191>
9. *Nagendran T, Larsen RS, Bigler RL, Frost SB, Philpot BD, Nudo RJ, Taylor AM* (2017) Distal axotomy enhances retrograde presynaptic excitability onto injured pyramidal neurons via trans-synaptic signaling. *Nat Commun* 8: 625. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00652-y>
10. *Barron KD, Dentinger MP, Popp AJ, Mankes R* (1988) Neurons of Layer Vb of Rat Sensorimotor Cortex Atrophy But Do Not Die After Thoracic Cord Transection. *J Neuropathol Exp Neurol* 47: 62–74. <https://doi.org/10.1097/00005072-198801000-00008>
11. *Moro V, Beccherle M, Scandola M, Aglioti SM* (2023) Massive body-brain disconnection consequent to spinal cord injuries drives profound changes in higher-order cognitive and emotional functions: A PRISMA scoping review. *Neurosci Biobehav Rev* 154: 105395. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105395>
12. *David S, Kroner A* (2011) Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci* 12: 388–399. <https://doi.org/10.1038/nrn3053>
13. *Gainetdinov RR, Hoener MC, Berry MD* (2018) Trace Amines and Their Receptors. *Pharmacol Rev* 70: 549–620. <https://doi.org/10.1124/pr.117.015305>
14. *Espinoza S, Lignani G, Caffino L, Maggi S, Sukhanov I, Leo D, Mus L, Emanuele M, Ronzitti G, Harmeier A, Medrihan L, Sotnikova TD, Chierigatti E, Hoener MC, Benfenati F, Tucci V, Fumagalli F, Gainetdinov RR* (2015) TAAR1 Modulates Cortical Glutamate NMDA Receptor Function. *Neuropsychopharmacology* 40: 2217–2227. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.65>
15. *Harrison M, O'Brien A, Adams L, Cowin G, Ruitenber MJ, Sengul G, Watson C* (2013) Vertebral landmarks for the identification of spinal cord segments in the mouse. *NeuroImage* 68: 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.11.048>

16. *Endo T, Spenger C, Tominaga T, Brene S, Olson L* (2007) Cortical sensory map rearrangement after spinal cord injury: fMRI responses linked to Nogo signalling. *Brain* 130: 2951–2961. <https://doi.org/10.1093/brain/awm237>
17. *Wrigley PJ, Gustin SM, Macey PM, Nash PG, Gandevia SC, Macefield VG, Siddall PJ, Henderson LA* (2009) Anatomical Changes in Human Motor Cortex and Motor Pathways following Complete Thoracic Spinal Cord Injury. *Cerebral Cortex* 19: 224–232. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn072>
18. *Maldonado-Bouchard S, Peters K, Woller SA, Madahian B, Faghihi U, Patel S, Bake S, Hook MA* (2016) Inflammation is increased with anxiety- and depression-like signs in a rat model of spinal cord injury. *Brain, Behavior, and Immunity* 51: 176–195. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.08.009>
19. *Wu J, Stoica BA, Luo T, Sabirzhanov B, Zhao Z, Guanciale K, Nayar SK, Foss CA, Pomper MG, Faden AI* (2014) Isolated spinal cord contusion in rats induces chronic brain neuroinflammation, neurodegeneration, and cognitive impairment: Involvement of cell cycle activation. *Cell Cycle* 13: 2446–2458. <https://doi.org/10.4161/cc.29420>
20. *Babusyte A, Kotthoff M, Fiedler J, Krautwurst D* (2013) Biogenic amines activate blood leukocytes via trace amine-associated receptors TAAR1 and TAAR2. *J Leukocyte Biol* 93: 387–394. <https://doi.org/10.1189/jlb.0912433>
21. *Barnes DA, Galloway DA, Hoener MC, Berry MD, Moore CS* (2021) TAAR1 Expression in Human Macrophages and Brain Tissue: A Potential Novel Facet of MS Neuroinflammation. *IJMS* 22: 11576. <https://doi.org/10.3390/ijms222111576>
22. *Polini B, Ricardi C, Bertolini A, Carnicelli V, Rutigliano G, Saponaro F, Zucchi R, Chiellini G* (2023) T1AM/TAAR1 System Reduces Inflammatory Response and β -Amyloid Toxicity in Human Microglial HMC3 Cell Line. *IJMS* 24: 11569. <https://doi.org/10.3390/ijms241411569>
23. *Cisneros IE, Ghorpade A* (2014) Methamphetamine and HIV-1-induced neurotoxicity: Role of trace amine associated receptor 1 cAMP signaling in astrocytes. *Neuropharmacology* 85: 499–507. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.06.011>
24. *Zhang M-X, Hong H, Shi Y, Huang W-Y, Xia Y-M, Tan L-L, Zhao W-J, Qiao C-M, Wu J, Zhao L-P, Huang S-B, Jia X-B, Shen Y-Q, Cui C* (2024) A Pilot Study on a Possible Mechanism behind Olfactory Dysfunction in Parkinson's Disease: The Association of TAAR1 Downregulation with Neuronal Loss and Inflammation along Olfactory Pathway. *Brain Sci* 14: 300. <https://doi.org/10.3390/brainsci14040300>
25. *Sun M, Zhang Y, Zhang X-Q, Zhang Y, Wang X-D, Li J-T, Si T-M, Su Y-A* (2024) Dopamine D1 receptor in medial prefrontal cortex mediates the effects of TAAR1 activation on chronic stress-induced cognitive and social deficits. *Neuropsychopharmacology* 49: 1341–1351. <https://doi.org/10.1038/s41386-024-01866-7>
26. *Andersen G, Krautwurst D* (2016) Trace Amine-Associated Receptors in the Cellular Immune System. In: *Trace Amines and Neurological Disorders*. Elsevier. 97–105. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803603-7.00007-0>
27. *Guerra-Gomes S, Sousa N, Pinto L, Oliveira JF* (2018) Functional Roles of Astrocyte Calcium Elevations: From Synapses to Behavior. *Front Cell Neurosci* 11: 427. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00427>
28. *Lee H-G, Wheeler MA, Quintana FJ* (2022) Function and therapeutic value of astrocytes in neurological diseases. *Nat Rev Drug Discov* 21: 339–358. <https://doi.org/10.1038/s41573-022-00390-x>
29. *Hart CG, Karimi-Abdolrezaee S* (2021) Recent insights on astrocyte mechanisms in CNS homeostasis, pathology, and repair. *J Neurosci Res* 99: 2427–2462. <https://doi.org/10.1002/jnr.24922>
30. *Hol EM, Pekny M* (2015) Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Curr Opin Cell Biol* 32: 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.02.004>
31. *Wu J, Zhao Z, Sabirzhanov B, Stoica BA, Kumar A, Luo T, Skovira J, Faden AI* (2014) Spinal Cord Injury Causes Brain Inflammation Associated with Cognitive and Affective Changes: Role of Cell Cycle Pathways. *J Neurosci* 34: 10989–11006. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5110-13.2014>

32. Liu T, Zuo H, Ma D, Song D, Zhao Y, Cheng O (2023) Cerebrospinal fluid GFAP is a predictive biomarker for conversion to dementia and Alzheimer's disease-associated biomarkers alterations among de novo Parkinson's disease patients: A prospective cohort study. *J Neuroinflammat* 20: 167. <https://doi.org/10.1186/s12974-023-02843-5>
33. Liddel SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, Bennett ML, Münch AE, Chung W-S, Peterson TC, Wilton DK, Frouin A, Napier BA, Panicker N, Kumar M, Buckwalter MS, Rowitch DH, Dawson VL, Dawson TM, Stevens B, Barres BA (2017) Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* 541: 481–487. <https://doi.org/10.1038/nature21029>
34. Ito M, Komai K, Mise-Omata S, Iizuka-Koga M, Noguchi Y, Kondo T, Sakai R, Matsuo K, Nakayama T, Yoshie O, Nakatsukasa H, Chikuma S, Shichita T, Yoshimura A (2019) Brain regulatory T cells suppress astrogliosis and potentiate neurological recovery. *Nature* 565: 246–250. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0824-5>
35. Sebek M, Gillie G, Autio D, Solt V, Le L, Martinetti L, Bonekamp K (2024) A Morphologically Distinct Subclass of Somatostatin-expressing Interneurons in the Somatosensory Cortex are Strongly Recruited by Input from the Motor Cortex. *Physiology* 39. <https://doi.org/10.1152/physiol.2024.39.s1.690>
36. Freund P, Curt A, Friston K, Thompson A (2013) Tracking changes following spinal cord injury: insights from neuroimaging. *Neuroscientist* 19: 116–128. <https://doi.org/10.1177/1073858412449192>
37. Nardone R, Höller Y, Sebastianelli L, Versace V, Saltuari L, Brigo F, Lochner P, Trinka E (2018) Cortical morphometric changes after spinal cord injury. *Brain Res Bull* 137: 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.11.013>
38. Takata Y, Yamanaka H, Nakagawa H, Takada M (2023) Morphological changes of large layer V pyramidal neurons in cortical motor-related areas after spinal cord injury in macaque monkeys. *Sci Rep* 13: 82. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26931-3>
39. Michetti F, Clementi ME, Di Liddo R, Valeriani F, Ria F, Rende M, Di Sante G, Romano Spica V (2023) The S100B Protein: A Multifaceted Pathogenic Factor More Than a Biomarker. *IJMS* 24: 9605. <https://doi.org/10.3390/ijms24119605>
40. Zhang Z, Ma Z, Zou W, Guo H, Liu M, Ma Y, Zhang L (2019) The Appropriate Marker for Astrocytes: Comparing the Distribution and Expression of Three Astrocytic Markers in Different Mouse Cerebral Regions. *BioMed Res Int* 2019: 9605265. <https://doi.org/10.1155/2019/9605265>
41. Tatsumi K, Isonishi A, Yamasaki M, Kawabe Y, Morita-Takemura S, Nakahara K, Terada Y, Shinjo T, Okuda H, Tanaka T, Wanaka A (2018) Olig2-Lineage Astrocytes: A Distinct Subtype of Astrocytes That Differs from GFAP Astrocytes. *Front Neuroanat* 12: 8. <https://doi.org/10.3389/fnana.2018.00008>
42. Du J, Yi M, Zhou F, He W, Yang A, Qiu M, Huang H (2021) S100B is selectively expressed by gray matter protoplasmic astrocytes and myelinating oligodendrocytes in the developing CNS. *Mol Brain* 14: 154. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00865-9>
43. Janigro D, Mondello S, Posti JP, Uden J (2022) GFAP and S100B: What You Always Wanted to Know and Never Dared to Ask. *Front Neurol* 13: 835597. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.835597>
44. Batiuk MY, Martirosyan A, Wahis J, De Vin F, Marneffe C, Kusserow C, Koeppen J, Viana JF, Oliveira JF, Voet T, Ponting CP, Belgard TG, Holt MG (2020) Identification of region-specific astrocyte subtypes at single cell resolution. *Nat Commun* 11: 1220. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14198-8>
45. Pfau SJ, Langen UH, Fisher TM, Prakash I, Nagpurwala F, Lozoya RA, Lee W-CA, Wu Z, Gu C (2024) Characteristics of blood–brain barrier heterogeneity between brain regions revealed by profiling vascular and perivascular cells. *Nat Neurosci* 27: 1892–1903. <https://doi.org/10.1038/s41593-024-01743-y>
46. Hu X, Zhang Y, Wang L, Ding J, Li M, Li H, Wu L, Zeng Z, Xia H (2022) Microglial activation in the motor cortex mediated NLRP3-related neuroinflammation and neuronal damage following spinal cord injury. *Front Cell Neurosci* 16: 956079. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.956079>

47. *Pottorf TS, Rotterman TM, McCallum WM, Haley-Johnson ZA, Alvarez FJ* (2022) The Role of Microglia in Neuroinflammation of the Spinal Cord after Peripheral Nerve Injury. *Cells* 11: 2083. <https://doi.org/10.3390/cells11132083>
48. *Espinoza S, Salahpour A, Masri B, Sotnikova TD, Messa M, Barak LS, Caron MG, Gainetdinov RR* (2011) Functional Interaction between Trace Amine-Associated Receptor 1 and Dopamine D2 Receptor. *Mol Pharmacol* 80: 416–425. <https://doi.org/10.1124/mol.111.073304>
49. *Wang Y, Lv H, Cui Q, Tu P, Jiang Y, Zeng K* (2020) Isosibiricin inhibits microglial activation by targeting the dopamine D1/D2 receptor-dependent NLRP3/caspase-1 inflammasome pathway. *Acta Pharmacol Sin* 41: 173–180. <https://doi.org/10.1038/s41401-019-0296-7>
50. *Pike AF, Longhena F, Faustini G, Van Eik J-M, Gombert I, Herrebout MAC, Fayed MMHE, Sandre M, Varanita T, Teunissen CE, Hoozemans JJM, Bellucci A, Veerhuis R, Bubacco L* (2022) Dopamine signaling modulates microglial NLRP3 inflammasome activation: implications for Parkinson's disease. *J Neuroinflammation* 19: 50. <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02410-4>
51. *Andoh M, Koyama R* (2021) Microglia regulate synaptic development and plasticity. *Development Neurobiol* 81: 568–590. <https://doi.org/10.1002/dneu.22814>
52. *Naka A, Veit J, Shababo B, Chance RK, Rizzo D, Stafford D, Snyder B, Egladyous A, Chu D, Sridharan S, Mossing DP, Paninski L, Ngai J, Adesnik H* (2019) Complementary networks of cortical somatostatin interneurons enforce layer specific control. *eLife* 8: e43696. <https://doi.org/10.7554/elife.43696>
53. *Sillerud LO, Yang Y, Yang LY, Duval KB, Thompson J, Yang Y* (2020) Longitudinal monitoring of microglial/macrophage activation in ischemic rat brain using Iba-1-specific nanoparticle-enhanced magnetic resonance imaging. *J Cereb Blood Flow Metab* 40: S117–S133. <https://doi.org/10.1177/0271678x20953913>
54. *Wu D, Miyamoto O, Shibuya S, Okada M, Igawa H, Janjua NA, Norimatsu H, Itano T* (2005) Different expression of macrophages and microglia in rat spinal cord contusion injury model at morphological and regional levels. *Acta Med Okayama* 59(4): 121–127. <https://doi.org/10.18926/AMO/31950>
55. *Nielson JL, Sears-Kraxberger I, Strong MK, Wong JK, Willenberg R, Steward O* (2010) Unexpected Survival of Neurons of Origin of the Pyramidal Tract after Spinal Cord Injury. *J Neurosci* 30: 11516–11528. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1433-10.2010>
56. *Nielson JL, Strong MK, Steward O* (2011) A reassessment of whether cortical motor neurons die following spinal cord injury. *J Comparat Neurol* 519: 2852–2869. <https://doi.org/10.1002/cne.22661>
57. *Chai W, Chen J-Y, Zhang K-X, Zhao J-J* (2021) Synaptic remodeling in mouse motor cortex after spinal cord injury. *Neural Regen Res* 16: 744. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.295346>
58. *Solstrand Dahlberg L, Becerra L, Borsook D, Linnman C* (2018) Brain changes after spinal cord injury, a quantitative meta-analysis and review. *Neurosci Biobehav Rev* 90: 272–293. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.04.018>
59. *Feng Z, Min L, Chen H, Deng W, Tan M, Liu H, Hou J* (2021) Iron overload in the motor cortex induces neuronal ferroptosis following spinal cord injury. *Redox Biol* 43. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101984>
60. *Nakhjiri E, Roqanian S, Zangbar HS, Seyedi Vafae M, Mohammadnejad D, Ahmadian S, Zamanzadeh S, Ehsani E, Shahabi P, Shahpasand K* (2022) Spinal Cord Injury Causes Prominent Tau Pathology Associated with Brain Post-Injury Sequela. *Mol Neurobiol* 59: 4197–4208. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-02843-1>
61. *Shi X, Swanson TL, Miner NB, Eshleman AJ, Janowsky A* (2019) Activation of Trace Amine-Associated Receptor 1 Stimulates an Antiapoptotic Signal Cascade via Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2. *Mol Pharmacol* 96: 493–504. <https://doi.org/10.1124/mol.119.116798>

62. Wu R, Liu J, Seaman R, Johnson B, Zhang Y, Li J-X (2021) The selective TAAR1 partial agonist RO5263397 promoted novelty recognition memory in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 238: 3221–3228.
<https://doi.org/10.1007/s00213-021-05937-1>
63. Miner NB, Elmore JS, Baumann MH, Phillips TJ, Janowsky A (2017) Trace amine-associated receptor 1 regulation of methamphetamine-induced neurotoxicity. *Neurotoxicology* 63: 57–69.
<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.09.006>

TAAR1 Modulates Neuronal and Glial Density in the Neocortex Following Spinal Cord Injury

D. S. Kalinina^{a,b,c,*}, A. A. Chesnokov^a, E. A. Romanyuk^a, A. D. Buglinina^a,
D. V. Khuzin^a, S. I. Milov^a, S. P. Konovalova^a, P. Yu. Shkorbatova^{b,d},
N. V. Pavlova^d, A. D. Belskaya^b, R. R. Gainetdinov^b,
and P. E. Musienko^{d,e,f,**}

^a*Sirius University of Science and Technology, Neurobiology, Sirius Federal Territory, Russia*

^b*St. Petersburg State University, Institute of Translational Biomedicine,
St. Petersburg, Russia*

^c*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russia*

^d*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^e*Life Improvement by Future Technologies (LIFT) Center, Moscow, Russia*

^f*Federal Center for Brain and Neurotechnologies, Moscow, Russia*

**e-mail: kalinina.ds@talantiuspeh.ru*

***e-mail: pol-spb@mail.ru*

Spinal cord injury (SCI) initiates a complex cascade of secondary pathological processes, including chronic neuroinflammation and neuroplastic remodeling both at the lesion site and in distant regions, such as the cerebral cortex. This study explores the role of trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) in modulating neuroinflammatory responses in the somatosensory cortex following lateral spinal cord hemisection in wild-type mice and TAAR1-knockout (TAAR1-KO). Behavioral tests revealed no significant differences in sensorimotor recovery, suggesting a limited impact of TAAR1 on functional recovery. However, immunohistochemical analysis uncovered substantial alterations in glial reactivity. Specifically, TAAR1-KO mice exhibited a marked increase in GFAP⁺ astrocyte density within the granular and pyramidal cortical layers, indicating enhanced astrogliosis. At the same time, the number of pro-inflammatory S100β⁺ astrocytes remained unchanged, which emphasizes the selective effect of TAAR1 on distinct astrocyte subpopulations. Additionally, TAAR1-KO mice showed a reduction in the density of Iba-1⁺ microglial cells. Furthermore, a decline in pyramidal neuron counts was noted, potentially indicative of impaired survival. Crucially, these differences emerged only post-injury, as genotypes were indistinguishable under baseline conditions. The obtained data demonstrate the key role of TAAR1 in modulating the glial response and expand our understanding of the molecular mechanisms of neuroinflammation in SCI, opening new avenues for the development of TAAR1-targeted neuroprotective strategies.

Keywords: trace amine, TAAR1, neuroinflammation, cerebral cortex, somatosensory cortex, spinal cord injury