

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

---

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ  
Кафедра высшей нервной деятельности

Сулейманова Алина Дамировна

ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ, СЕЛЕКТИРОВАННЫХ НА РАЗНЫЙ ВЕС МОЗГА:  
РОЛЬ ГЕНОТИПА В РЕАКЦИИ НА ИММОБИЛИЗАЦИОННЫЙ СТРЕСС

Выпускная квалификационная работа магистра

Научный руководитель:  
доктор биологических наук  
Полетаева Инга Игоревна

Москва - 2020 г.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1. Гены и мозг.....	6
1.1.1. Развитие мозга и мутации отдельных генов (модели с использованием методов генной инженерии).....	6
1.1.2. Исследование генетического контроля веса мозга с использованием метода QTL (локусы количественных признаков).....	17
1.2. Селекция на большой и малый вес мозга.....	19
1.3. Физиология стресса.....	24
1.3.1. Концепции стресса.....	24
1.3.2. Гормоны стресса.....	27
1.3.3. Стресс: физические факторы.....	33
1.3.4. Психологические стрессоры: иммобилизация.....	36
1.4. Стресс и поведение.....	39
1.5. Генетический контроль стресса.....	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.....	55
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	58
3.1. Тест на гипонеофагию.....	58
3.2. Тест на стартл-реакцию.....	60
3.3. Тест «неизбегаемая скользкая воронка».....	61
3.4. Тест на поиск входа в укрытие.....	66
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	72
ВЫВОДЫ.....	82
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	83

## **ВВЕДЕНИЕ**

Исследование связи между особенностями генотипа, стресс-реактивности и проявлениями нарушения поведения, в том числе когнитивных процессов, входит в число важнейших проблем нейробиологии. В контексте современных представлений стресс рассматривают как компонент аллостаза – процесса, посредством которого осуществляется адаптация организма через изменение своего состояния (McEwen et al., 2015). Различные события и факторы (стрессоры) приводят к формированию физиологической реакции, реализуемой при помощи активации ряда систем, среди которых гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось и вегетативная нервная система (Gunnar, Quevedo, 2007; Ulrich-Lai, Herman, 2009; Godoy et al., 2018). Развитие стрессовой реакции сопряжено с морфологическим преобразованием структур мозга (Ulrich-Lai, Herman, 2009; McEwen et al., 2016) и, как следствие, с проявлением тревожности (Daviu et al., 2019), изменением уровня двигательной активности (van Bogaert et al., 2006), а также с нарушением когнитивных способностей (Ngoupraye et al., 2018) животных. Особую значимость экспериментальное изучение роли стресса приобретает в свете существования группы психических заболеваний, возникающих в случае острого или хронического воздействия стрессоров (McEwen, Wingfield, 2003). К таким патологиям относят посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР), депрессию, тревожные состояния и др. (Ehlert et al., 2001; Smoller, 2013; Godoy et al., 2018).

Анализ стрессовой реакции проводят на разных моделях (Campos et al., 2013; Aspesi, Pinna, 2019), в том числе на модели, где в качестве стрессора выступает иммобилизация (restraint stress). Оценка изменений поведения, вызванных стрессом иммобилизации, перспективна и с точки зрения влияния генотипа на эти процессы. Подобные исследования проводятся либо на полученных в ходе селекции линиях грызунов (Veenema, Neumann, 2007; Кнарман et al., 2012), либо на животных с измененным уровнем экспрессии ряда генетических элементов (Sachs et al., 2015; Salmaso et al., 2016; Whirledge, DeFranco, 2018).

Существует большое число работ по выявлению генетического компонента в развитии стресса. В то же время мало изученным остается вопрос корреляции показателей стресс-реакции и генов, полиморфизм по которым определяет размеры головного мозга в пределах одного вида. Это обстоятельство определило предмет настоящей работы, в которой приведены результаты исследования эффекта иммобилизации и спровоцированного ею стрессового состояния у мышей двух линий, селектированных на большой и малый относительный вес мозга (линии БМ и ММ соответственно). В настоящее время эти линии разводятся без поддерживающей селекции. Показано, что даже в отсутствие отбора у мышей линий ММ и БМ сохраняются различия в весе мозга и различия в поведении, включая когнитивные способности и проявления тревожности (Перепелкина и др., 2013, 2019).

**Цель работы:** оценить влияние стресса, вызванного иммобилизацией, на поведение мышей двух линий, различающихся по весу мозга (БМ, ММ).

Для достижения этой цели были поставлены следующие **задачи:**

1. сформировать внутри каждой линии мышей контрольную и экспериментальную (подвергшуюся иммобилизации) группы;
2. изучить влияние иммобилизации на показатели уровня тревожности, исследовательской активности, депрессивно-подобного состояния у мышей всех групп с использованием батареи тестов;
3. изучить успешность решения когнитивного теста мышами разных групп и генотипов;
4. оценить различия в поведении, а также когнитивных способностях у мышей стрессовых и контрольных групп двух линий.

**Практическая значимость исследования.** Полученные в ходе экспериментов данные и результаты их анализа вносят вклад в изучение проблемы взаимосвязи генотипа и стресс-реактивности. Результаты данного исследования демонстрируют влияние иммобилизации на уровни тревожности, исследовательского поведения, когнитивных способностей мышей двух линий, различающихся по относительному весу мозга, а также на формирование у них депрессивно-подобного состояния. Представленные в работе данные имеют также важное значение для характеристики использованных линий мышей в отсутствие поддерживающей селекции. Обнаружение различий в поведении,

спровоцированных стрессом иммобилизации, у мышей двух линий позволяет использовать их в качестве моделей для апробации препаратов, направленных на купирование негативного влияния стресса.

# ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1. Гены и мозг

Развитие мозга происходит при взаимодействии генома (экспрессии определенных генов в определенные моменты времени) и внешних (по отношению к данной системе генов) влияний. В соответствии с этим положением современной эпигенетической концепции, влияние внешних (по отношению к данной развивающейся структуре мозга) воздействий зависит от конкретного генотипа особи. Иными словами, морфогенез мозга требует точной регуляции активности множества генов, контролирующих продукцию нейронных предшественников и формирование нейронов. Нарушение регуляции этих генов приводит к серьезным порокам развития головного мозга, таким как макроцефалия, микроцефалия и лиссэнцефалия.

### 1.1.1. Развитие мозга и мутации отдельных генов (модели с использованием методов генной инженерии)

*Микроцефалия (МСРН)* - это клиническое состояние человека, при котором размер головы и мозга сильно уменьшен, что сопровождается умственной отсталостью. Мутации в локусах *Aspm* (*Mcph5*) и *Wdr62* (*Mcph2*) являются двумя наиболее распространенными генетическими причинами первичной микроцефалии, на долю которых приходится более половины всех случаев заболевания (Jayaraman et al., 2016; Pirozzi et al., 2018). У мышей-нокаутов по каждому из этих двух генов был снижен вес мозга по сравнению с мышами дикого типа. Толщина коры и ее наружного слоя, в частности, также была меньше у данных нокаутов. У мышей с генотипом *Wdr62* (-/-) эти изменения

носили более серьезный характер, чем при нокауте гена *Aspm*. У нокаутов по *Aspm*, *Wdr62* или по обоим генам одновременно выраженность микроцефалии зависела от степени нарушения дубликации генов, отвечающих за формирование и функцию центриолей, т.е. от интенсивности деления клеток-предшественников. Интересно отметить, что полноценное формирование центриолей основано на взаимодействии белков ASPM и WDR62 с белками двух других генов микроцефалии *Cep63* и *Cenpj* (*McpH6*) (Jayaraman et al., 2016).

Делеции по другим генам, связанным с микроцефалией (*McpH1*, *Cdk5rap2*, *McpH3*, *Kn11*, *McpH4*) у мышей, также приводили к уменьшению размеров мозга и толщины коры (Gruber et al., 2011; Zaqout et al., 2019; Shi et al., 2019). Гены, нарушение экспрессии которых обуславливает развитие микроцефалии, играют важную роль в созревании клеточного центра и организации веретена деления в ходе митоза. Эти гены контролируют как способность к делению клеток-предшественниц нейронов и глии, так и апоптоз дочерних клеток в случае аномалий, возникающих из-за митотических ошибок. Истощение пула нервных стволовых клеток, которое при этом происходит, приводит к уменьшению размера мозга (Jayaraman et al., 2018 цит. по Subramanian et al., 2020; Gruber et al., 2011; Zaqout et al., 2019; Shi et al., 2019).

У мышей-нокаутов по гену *Nhe6*, моделирующих синдром Кристиансона с характерной постнатальной микроцефалией, проследили динамику морфологических изменений мозга мыши с момента рождения до возраста 2 лет. Первое изменение объема было зафиксировано в мозжечке у мышей в возрасте двух месяцев, которое было связано с

прогрессирующей потерей клеток Пуркинье. Более масштабное уменьшение объема ткани мозга было зафиксировано в гиппокампе, стриатуме и коре мозга еще через 2 месяца. Были также обнаружены признаки первичной аксонопатии (Xu et al., 2018).

Резкое уменьшение размеров мозга в постнатальный период наблюдалось и у мышей с выключением генов *Pak1(-/-)* и *Pak3(-/-)* (на 38.3% по массе и 36% по объему по сравнению с диким типом в течение первых 4 месяцев после рождения). РАК – это семейство киназ, регулирующих формирование элементов цитоскелета. У мышей, у которых нарушен синтез этих двух киназ, была более тонкая кора и уменьшено мозолистое тело. Размеры гиппокампа, продолговатого и спинного мозга были также редуцированы. Данная мутация практически не повлияла на общее число клеток в мозге, но затронула строение клеток: тело нейронов стало меньше, дендриты и аксон имели заметно упрощенное строение, а также уменьшенную плотность синапсов. Нокауты демонстрировали высокую двигательную активность, были более тревожны, менее успешны в обучении (Huang et al., 2011).

Активация киназ РАК осуществляется малыми Rho GTPазами, к числу которых относится белок RAC1. Нокаут гена, кодирующего белок RAC1, в нейробластах переднего мозга мышинных эмбрионов приводил к уменьшению размеров как стриатума, так и коры головного мозга наряду с увеличением боковых желудочков. Данная аномалия была вызвана ускорением выхода из клеточного цикла стволовых клеток-предшественниц нейронов и повышением апоптоза пост-митотических нейронов в ходе раннего кортикогенеза. Это

привело к уменьшению пула нейронных предшественников к окончанию развития переднего мозга. Таким образом, сигнальный путь с участием Rho GTPаз имеет важное значение для развития мозга (Chen et al., 2009).

Классическая *лиссэнцефалия* – это тяжелое заболевание человека, связанное с нарушением миграции нейронов, которое характеризуется сглаживанием извилин и борозд. Развитие форм классической лиссэнцефалии – изолированной лиссэнцефалии и синдрома Миллера-Дикера – связано с повреждением или утратой гена *Lis1* в пределах диапазона хромосомы 17 - 17p13.3. У мышей выключение гена *Pafah1b1* (*Lis1*) вызывало небольшое снижение размеров мозга в сравнении с диким типом. Мозг мышей с этой мутацией характеризовался увеличенными желудочками на фоне редукции септума и стриатума. Отмеченная дезорганизация слоев коры, гиппокампа, обонятельных луковиц и мозжечка была связана с нарушением миграции нейронов (Gambello et al., 1999). Дальнейшие работы показали важность участия данного гена и в пролиферации клеток (Wynshaw-Boris, 2007).

Синдром Миллера-Дикера является более серьезной формой лиссэнцефалии, которая наряду с отсутствием извилин характеризуется дисморфизмом лица. В основе данной патологии лежит делеция не только гена *Lis1*, но и гена *Ywhae*, кодирующего белок 14-3-3эпсилон. Белки из семейства 14-3-3 – это регуляторные молекулы, связанные с другими белками и регулирующие клеточный цикл, апоптоз, ответ на стресс и т.д. У мышей со сниженной экспрессией данного гена наблюдается нарушение организации слоев гиппокампа и истончение коры (Toyo-oka et al., 2003 цит. по Wynshaw-Boris, 2007).

Продукт гена *Lis1* регулирует перемещение моторного белка-динеина по микротрубочкам (Tanaka et al., 2004 цит. по Wynshaw-Boris et al., 2010). Взаимодействие генов *Nde1* и *Lis1* важно для организации микротрубочек, позиционирования нейронов и их развития. Делеция по гену *Nde1* у мышей вызывала уменьшение количества слоев коры с 4 до 2. При этом в клетках-предшественницах нейронов коры были обнаружены дефекты в локализации и ориентации хромосом в ходе митоза (Feng, Walsh, 2004 цит. по Wynshaw-Boris et al., 2010).

*Мегалэнцефалия* – расстройство, связанное с увеличением размеров коры головного мозга человека, а *макроцефалия* – с увеличением всей головы. В то время как мегалэнцефалия может способствовать увеличению размера головы, макроцефалия чаще всего связана с изменениями костной структуры, сосудистой системы или с гидроцефалией (Pavone et al., 2017 цит. по Subramanian et al., 2020). Подобные нарушения развития у человека были связаны с мутациями, которые вызывают повышенную активацию сигнального пути PI3K-AKT-mTOR, контролирующего рост и деление клеток (Iffland, Crino, 2017 цит. по Subramanian et al., 2020). Воспроизведение таких мутаций (связанных с геном *Pik3ca*) у мышей привело к увеличению их головного мозга, нарушению развития коры, гидроцефалии и эпилепсии. Увеличение мозга было обусловлено усилением процессов пролиферации и возрастанием размеров клеток (Roy et al., 2015). Наряду с морфологическими изменениями, эффект нарушения сигнализации PI3K-AKT-mTOR затрагивал поведение и выражался в нарушении социальной памяти и моторного

научения у мышей (активация сигнального пути была связана с нарушением экспрессии гена *Rab39b*, сцепленного с X-хромосомой и кодирующего белок, принадлежащий RAS-семейству GTPаз) (Zhang et al., 2020).

Сходный фенотип развивался у мышей, несущих только один аллель гена *Cdh8*. Данный ген кодирует белок, регулирующий экспрессию многих генов, в том числе гена бета-катенина и p53. У мышей с подобной мутацией экспрессия белка CDH8 была снижена на 30%, и это привело к увеличению объема головного мозга (Katayama et al., 2016), а также увеличению межглазного расстояния (Suetterlin et al., 2018). Такие мыши были более тревожными и совершали повторяющиеся стереотипные действия, у них наблюдалась задержка моторного развития и уменьшение числа социальных взаимодействий, которое, однако, компенсировалось увеличением их длительности (Katayama et al., 2016; Suetterlin et al., 2018). Развитие нервной системы у мышей происходило с задержкой. Возможная причина этих аномалий – повышенная продукция белка REST, который подавляет экспрессию многих генов, необходимых для развития мозга. Подобные изменения, происходящие как на молекулярно-генетическом, так и на поведенческом уровнях описаны и у людей с расстройством аутистического спектра (Katayama et al., 2016).

Мутация *megencephaly* (*mceph/mceph*), затрагивающая у мышей участок хромосомы 6 (гомологичен участку хромосомы 12 человека), вызывала увеличение размеров мозга (на 25%) и судороги, но не приводила к развитию гидроцефалии (Donahue et al., 1996). Мозг мышей с мутацией превосходил мозг мышей дикого типа по размерам вентральных и теменных отделов

коры, а также гиппокампа (Diez et al., 2003). Аномально большой мозг был следствием увеличения числа клеток, но не их размера. В гиппокампе 12-недельных мышей *тсерh/тсерh* количество нейронов и астроцитов в зубчатой извилине и зоне СА2 гиппокампа было выше по сравнению с мышами дикого типа (Almgren et al., 2007). В то же время клетки гиппокампа и коры по размеру не различались у мышей-мутантов и мышей дикого типа (Yang et al., 2012). Процесс увеличения размеров мозга и его структур после рождения у мышей *тсерh/тсерh* был более продолжительным – до 12-й недели, тогда как у мышей дикого типа он происходил в период между 3 и 8 неделями (Diez et al., 2003).

Морфологические изменения, описанные у мышей *тсерh*, обусловлены инактивацией потенциал-зависимого калиевого канала Kv 1.1, что, в свою очередь, вызвано делецией 11 пар нуклеотидов в кодирующем этот белок гене на хромосоме 6 (Petersson et al., 2003). У мышей-нокауты по этому гену так же, как и у мутантов по *тсерh*, был увеличен гиппокамп (Persson et al., 2007). В дополнение к этому, мутация сопровождалась изменениями в функции системы инсулин-зависимых факторов роста (Petersson et al., 1999), а также в продукции регуляторных пептидов, среди которых были холецистокинин, энкефалин и др. (Petersson et al., 2000). Авторы предполагают, что увеличение размеров мозга у мышей с *тсерh* могло быть связано с вызванным судорожными припадками повышением регуляции трофических факторов, влияющих на рост, пролиферацию и выживание клеток. Однако причинно-следственные отношения между обнаруженным патологическим изменением электрической активности и

нейрохимическими сигналами остаются неясными (Diez et al., 2003).

У трансгенных мышей с повышенным уровнем экспрессии инсулиноподобного фактора роста-1 IFG-1 было увеличено число нейронов в коре, дорсальном стриатуме, ядрах уздечки (habenula), зубчатой извилине гиппокампа и глиальных клеток (в коре и подкорковых структурах). Это имело результатом увеличение веса мозга, которое началось уже на стадии эмбрионального развития и продолжалось после рождения (на 27% к 12 дню постнатального развития). В ЦНС эмбриона активность IGF-I стимулирует пролиферацию предшественниц нервных клеток, а на постнатальном этапе развития – ингибирует их апоптоз (Porken et al., 2004).

Экспрессия нокаута по гену *Gli3* в клетках коры приводила к увеличению размеров мозга и образованию складчатых структур в области средней борозды, разделяющей два полушария. Эти изменения были вызваны ускорением клеточного цикла клеток-предшественниц и образованием молодых нейронов, а появление складчатости – нарушениями в регуляции миграции нейронов (Zhang et al. 2018). Роль гена *Gli3* заключается в подавлении сигналов пути Shh (Sonic hedgehog) и в регуляции экспрессии фактора роста фибробластов FGF8, что приводит к снижению пролиферации нервных стволовых клеток (Blaess et al., 2008; Feijóo et al., 2011). Противоположный эффект (уменьшение размеров мозга и коры) наблюдался у мышей со сниженной экспрессией гена, кодирующего микроРНК-7. Наблюдающаяся у таких мышей повышенная регуляция экспрессии генов-мишеней микроРНК-7 (*Ak1* и *Cdkn1a* (p21)) приводила к патологии клеток-

предшественниц нейронов и снижению их числа, и как следствие, формированию сходного с микроцефалией фенотипа (Pollock et al., 2014).

Сочетание двух описанных выше мутаций вызывало «сглаживание» эффектов нокаута по гену *Gli3*. Мозг мышей становился меньше, как и размеры желудочков, а складчатые структуры исчезали. Возможная причина подобных изменений – изменение регуляции активности Shh-пути геном *Pax6*, являющимся мишенью микроРНК-7. Снижение экспрессии микроРНК-7 приводило к активации *Pax6*, подавляющего сигнализацию Shh подобно гену *Gli3* (Zhang et al., 2018). Таким образом, эффект экспрессии генов *Gli3* и микроРНК-7 был противоположным. Баланс их взаимодействия в норме определяет морфогенез мозга и коры через контроль клеточного цикла клеток-предшественниц и формирования новых нейронов. Гены микроцефалии могут быть вовлечены в восстановление дефектов макроцефалии (Zhang et al., 2018).

Чрезвычайно большой мозг (на 30% больше, чем у сородичей дикого типа) был обнаружен у мышей-нокаутов по белку CD81 (-/-). У мышей с этой мутацией была больше и толщина коры. Изменение размеров мозга сопровождалось увеличением количества астроцитов и клеток микроглии. В то же время количество нейронов и олигодендроцитов у CD81 (-/-) животных не отличалось от такового у мышей дикого типа. CD81 является членом семейства белков тетраспанинов. Эта группа малых мембранных белков принимает участие в регуляции клеточной миграции и митотической активности. В ЦНС белок CD81 экспрессируется глиальными клетками, выполняя функцию контроля их числа (Geisert et al, 2002).

Увеличение размеров мозга наблюдалось у мышей, трансгенных по гену бета-катенина. Бета-катенин – белок, определяющий направление развития (деление или дифференцировка) клеток в пролиферативных зонах мозга. Эта функция бета-катенина связана с его участием в работе сигнального пути Wnt: молекулы бета-катенина взаимодействуют с транскрипционными факторами TCF/LEF, регулирующими экспрессию ключевых для эмбрионального развития генов. У трансгенных мышинных эмбрионов площадь поверхности коры была сильно увеличена, что сопровождалось появлением складок, сходных с извилинами и бороздами высших млекопитающих (Chenn, Walsh, 2002). В мозге взрослых мышей с пониженным уровнем бета-катенина наблюдалось увеличение объема субвентрикулярной зоны и формирование в ней скоплений крупных и среднего размера нейронов, увеличение боковых желудочков, гиппокампа и мозга в целом. Площадь поверхности коры также была повышена (Chenn, Walsh, 2003).

К образованию складчатых структур в коре мозга мышей приводило и введение генов человека. Например, введение гена *Arhgap11b* в геном мыши привел к сильному увеличению частоты деления клеток радиальной глии, что увеличило общий объем коры и привело к образованию примитивных извилин с сохранением полноценных слоев коры (Florio et al., 2015).

Введение гена человека FGF2 эмбрионам мыши на 11,5 день эмбрионального развития, т.е. до периода образования внутрислоистых аксональных связей, индуцировало образование в росто-латеральных отделах коры извилин и

борозд в обоих полушариях. У взрослых трансгенных мышей мозг также был увеличен. Другой белок человека, FGF8b, вызывал у эмбрионов мыши увеличение общей поверхности коры, но не образование складчатых структур (Rash et al., 2013).

Встраивание энхансера *Hare5* в геном мыши увеличивало размеры коры мозга, а также число нейронов в 3-5 слоях коры. В целом для коры таких мышей был характерен усиленный тангенциальный рост. *Hare5* физически и специфически контактирует с промотором гена *Fzd8*, кодирующим белок-рецептор Wnt-пути, который участвует в активации бета-катенина и запуске сигнального пути в неокортексе эмбриона мыши (Boyd et al., 2015).

В линии трансгенных мышей, нейроны которых экспрессируют ген человека *Vcl-2*, головной мозг был увеличен на 12% по сравнению с диким типом. Белок, кодируемый данным геном, блокирует процессы клеточной смерти, что приводит к изменению числа клеток в структурах мозга. В мозге трансгенных мышей происходило увеличение количества двигательных нейронов в ядрах лицевого нерва (Martinou et al., 1994), среднего числа клеток Пуркинье (на 43%) и гранулярных клеток мозжечка, а также числа нейронов нижней оливы (на 28% и 29% соответственно по сравнению с контрольными мышами) (Zanjani et al., 1996, 1997). Усиленная экспрессия гена *Vcl-2* у мышей вызывала снижение уровня тревожности и неофобии (Rondi-Reig et al., 1997).

Важную роль в контроле размера головного мозга мыши на ранних этапах развития, в частности, размера новой коры играет взаимодействие молекул эфрина-А с соответствующими рецепторами EphA. Это взаимодействие регулирует апоптоз

клеток-предшественниц в коре. Так, эктопическая экспрессия эфрина-А5 в клетках-предшественницах, экспрессирующих EphA7, приводила к усилению функционирования рецепторов EphA и кратковременной волне апоптоза этих клеток-предшественниц. Подобное преждевременное истощение пула клеток-предшественниц было причиной резкого уменьшения размера коры мозга у мышинных эмбрионов. В то же время у эмбрионов-нокауты по гену EphA7 (-/-) был снижен процесс апоптоза, происходящий в норме в предшественницах нейронов переднего мозга, что приводило к увеличению размеров коры (Deraere et al., 2005).

Эксперименты с изменением активности гена *Zfp568* у мышей показали его значение для поддержания стволовых клеток нервной ткани и регуляции размеров эмбрионального мозга. У мышей-нокауты по этому гену вес мозга при рождении был значительно ниже в сравнении с контролем, однако в более зрелом возрасте вес мозга таких мышей выравнивался с показателями контроля. Было показано, что экспрессия гена *Zfp568* в клетках-предшественницах нейронов в зонах с активным нейрогенезом во взрослом мозге способствовала сохранению их пролиферации. Но у мышей-нокауты наблюдалось снижение пролиферации стволовых клеток в субвентрикулярной зоне боковых желудочков (с сохранением нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа). Ген *Zfp568* гомологичен гену *M003-A06* человека и кодирует KRAB-белки с «цинковыми пальцами» – семейство ДНК-связывающих белков-регуляторов транскрипции, подавляющих работу других генов (Chien et al., 2012).

У эмбрионов мышей с нокаутом по гену *Cyp7b1* было обнаружено увеличение размера мозга, которое исчезало к моменту полового созревания. Оно заключалось в увеличении размера переднего мозга и в сдавливании желудочков. Белок, кодируемый данным геном, инактивирует *3 $\beta$ Adiol* – метаболит тестостерона, циркулирующий в крови плода и оказывающий влияние на развитие мозга. Отсутствие синтеза данного белка у мышей-нокаутов приводило к усилению образования тестостерона и, как следствие, индуцировало подавление апоптоза нервных клеток, а это сопровождалось увеличением размера мозга. В то же время у взрослых мышей никаких неврологических отклонений обнаружено не было (Sugiyama et al., 2009).

Моделирование на мышцах ряда патологических состояний человека позволило подтвердить роль генотипа в их формировании, а также их влияние на размеры мозга. Так у трансгенных мышей, выступающих в качестве модели синдрома Дауна, вес мозга был повышен на 14% в сравнении с диким типом. Получение данной модели стало возможным после введения в геном мышей искусственной хромосомы дрожжей (YAC), содержащей 5 генов хромосомы 21 человека, в числе которых был ген *Dyrk1a*. Данный ген кодирует серин-треонин киназу, контролирующую клеточный цикл. У трансгенных мышей, полученных с помощью введения им YAC без гена *Dyrk1a*, значительных отличий в размере мозга не было. Увеличение размеров мозга произошло, главным образом, за счет увеличения области таламуса и гипоталамуса, в то время как вклад увеличения объема желудочков был небольшим. Изменения морфогенеза головного мозга были

заметны уже на 2-7 дни после рождения, а с 15 дня были обнаружены и региональные изменения (Sebrié et al., 2008). У трансгенных мышей было нарушено обучение и проявлялась гиперактивность (Branchi et al., 2004).

Воссоздание у мышей мутации в гене *Foxp2*, соответствующей мутации в семье людей КЕ с характерным речевым расстройством, привело к уменьшению размеров мозга и, в частности, мозжечка. В мозжечке мутантных мышей было меньше «листочков», а клетки Пуркинье имели более тонкие дендриты, что, в свою очередь, сопровождалось снижением числа их синапсов с параллельными волокнами (Fujita et al., 2008). Изменения, затронувшие строение мозжечка, были причиной серьезных двигательных нарушений и исчезновения ультразвуковой вокализации, которая важна для коммуникации между матерью и детенышами. Описанные выше аномалии наблюдались у гомозигот по данной мутации (Fujita et al., 2008), а также у мышей-нокауты по гену *Foxp2* (Shu et al., 2005). Для мышей-гетерозигот были характерны умеренные нарушения в морфологии мозга и поведении (Fujita et al., 2008).

SPEB2 – наиболее консервативный белок из семейства рецепторов, связанных с G-белками (GPCR). Белки этого семейства вовлечены в реализацию многих типов информационных процессов в ЦНС. Экспрессия гена *Speb2* высока в областях мозга, обеспечивающих высокий уровень пластичности, например, в гиппокампе. Трансгенные мыши, у которых повышена экспрессия гена *Speb2*, рассматриваются в качестве генетической модели шизофрении (Matsumoto et al., 2008). У трансгенных мышей был снижен вес мозга, причем

изменения в весе развивались после рождения. У мышей-нокаутов по этому гену вес мозга был увеличен (Matsumoto et al., 2008). Сверхэкспрессия белка SPEB2 приводила к снижению как пролиферации клеток, так и выживания новых нейронов в зубчатой извилине. Повреждение гена имело противоположный эффект (Chen et al., 2012). Однако в обоих случаях грубых нарушений в отдельных структурах мозга выявлено не было (Matsumoto et al., 2008). Полученные две линии мышей различались по поведению и когнитивным способностям. Повышение синтеза белка SPEB2 приводило к снижению числа социальных взаимодействий, сенсомоторным нарушениям и нарушениям памяти с сохранением нормального уровня двигательной активности. Напротив, у нокаутов были более высокие результаты в тестах на память, но без видимых нарушений других форм поведения (Matsumoto et al., 2008).

### **1.1.2. Исследование генетического контроля веса мозга с использованием метода QTL (локусы количественных признаков)**

Использование метода QTL (quantitative trait loci) позволяет выявить хромосомную локализацию генов, отвечающих за формирование какого-либо количественного признака. Количественная величина такого признака является результатом совместного функционирования нескольких генов. Для этого в качестве родительских используют две инбредные линии, различающиеся по величине выбранного признака, гибриды которых оказываются генетически гетерогенными. Между животными F<sub>2</sub> проводят близкородственные скрещивания. В итоге, после 10-12 поколений инбридинга, формируют несколько «рекомбинантных инбредных линий»,

тестирование которых позволяет определить их сходство с родительскими по изучаемому признаку. Маркеры ДНК (минисателлитные участки) позволяют определить, в каком участке какой именно хромосомы расположен один из генов-кандидатов (функция которых известна на момент анализа) (Перепелкина и др., 2013).

В одном из первых исследований генетической детерминированности признака «вес мозга» в качестве рекомбинантных инбредных линий использовали батарею линий BXD, полученных в ходе скрещивания линий C57BL/6J и DBA/2J. Различие в весе мозга между родительскими линиями составляло около 80 мг. Согласно такому анализу, определяющие вес мозга гены располагались на хромосомах 7, 11 и 17 (Belknap et al., 1992). Однако исследование, проведенное в 2012 г., показало, что определяющие вес целого мозга гены расположены на хромосомах 12, 15 и 19 (Hager, 2012).

Гены-кандидаты для такого признака, как вес переднего мозга (т.е. без обонятельных луковиц и ствола мозга), были картированы на хромосомах 1 и 11 (Lu et al., 2008). Ген *Asb3* (хромосома 11) кодирует белок, ингибирующий киназы, вовлеченные в процесс миграции нейронов. Ген *Tnni1*, расположенный на первой хромосоме, кодирует белок тропонин-1. Он широко экспрессируется в скелетных мышцах и препятствует актин-миозиновому взаимодействию, а также считается элементом цитоскелета нейронов некоторых типов (Bond, Woods, 2006, цит. по Lu et al., 2008).

Локусы, определяющие признак «объем коры мозга», располагаются на 11 хромосоме. Объем некорковых структур

связан с генами, расположенными на 19 хромосоме. Среди 23 генов, чья функция уже известна, один был выделен авторами как наиболее подходящий на роль кандидата по данному признаку – ген *Ctnf*. Кодированный им белок – цилиарный нейротрофический фактор – наряду с влиянием на трофику и выживание нервных волокон в цилиарном ганглии, является модулятором нейрогенеза и влияет на выживание нейронов (Beatty, Laughlin, 2006).

QTL-анализ для признака «объем дорсального стриатума» (скорлупа+хвостатое ядро, без прилежащего ядра) выявил локусы на хромосоме 6. Среди генов-кандидатов важен ген *Htra2*, принимающий участие в процессах апоптоза и нейродегенерации (мышь-нокауты по этому гену показали уменьшение числа клеток в стриатуме). Ген *Glo1* связан с ответом на окислительный стресс и с апоптозом. Остальные гены-кандидаты связаны с процессами клеточной пролиферации, созревания нейронов и их трофическими функциями (гены *Mxd1*, *Hdac11*, *Tia1*) (Rosen et al., 2009).

Таким образом, использование методов современной генетики позволило описать мутации, влияющие на строение и функционирование ЦНС, а также определить роль отдельных генов в формировании мозга и его структур. Генетический контроль размеров мозга связан с регуляцией пролиферации, дифференцировки, выживания и миграции клеток-предшественниц нейронов. Данные, полученные благодаря применению метода QTL, позволяют подтвердить участие множества генов в определении размеров мозга.

## **1.2. Селекция на большой и малый вес мозга**

Искусственный отбор на высокие и низкие значения относительного веса головного мозга можно использовать в качестве инструмента для подтверждения или опровержения генетической детерминированности данного признака.

Один из первых селекционных экспериментов, где в качестве признака для отбора выбрали вес мозга, был выполнен в конце 60-х годов 20 века. Отбор проводили на абсолютный вес головного мозга в популяции, полученной в ходе скрещивания мышей восьми инбредных линий. В результате эксперимента были получены две линии – Н-линия и L-линия (высокий и низкий вес мозга соответственно) – и установлена связь между весом мозга, уровнем двигательной активности и обучаемости. Мыши с высоким весом мозга показали более высокий уровень двигательной активности, а также были более успешны в обучении дифференцировке (Wimer, Prater, 1966).

Позже у потомков ряда поколений обнаружили дегенерацию сетчатки, поэтому для повторного изучения поведения выбрали мышей двух линий без данной патологии. Полученные данные подтвердили результаты предыдущего исследования, а также было отмечено, что мыши с большим мозгом ввиду характерной двигательной активности лучше обучаются в задачах, требующих активного ответа. В противном случае они были менее успешными в сравнении с мышами другой линии (Wimer et al., 1969).

Исследование физического развития мышей двух линий показало, что по размеру мозга животные Н-линии превосходят контроль уже при рождении, в то время как мозг мышей L-

линии не отличается от контроля, но его рост начинает замедляться со второй недели после рождения (Fuller, Geils, 1972). Согласно результатам поведенческих тестов, проведенных в первые 3 недели жизни, для мышей с высоким весом мозга характерно более быстрое психомоторное развитие в сравнении с контролем того же возраста. Для мышей линии, селектированной на малый вес мозга, также характерна подобная тенденция, однако эффект не столь устойчив, как у мышей Н-линии (Fuller, Geils, 1973).

В 1974 году Фуллер и Херман провели селекцию не на абсолютный, а на относительный вес мозга, чтобы избежать сопряженного отбора по весу тела (Fuller, Herman, 1974). Выявленные различия в поведении полученных линий соответствовали таковым в приведенных выше работах. Однако психомоторное развитие мышей L-линии протекало быстрее, чем у мышей Н-линии (Chen, Fuller, 1975). Предложенное авторами объяснение данного наблюдения заключается в том, что у мышей с малым относительным весом мозга дифференцировка нервной системы протекает быстрее, и вследствие меньшего числа клеточных делений, вес мозга оказывается ниже (Chen, Fuller, 1975).

В 1975 году сотрудники лаборатории физиологии и генетики поведения начали проводить свой эксперимент по выведению линий мышей, различающихся по относительному весу мозга. Отбор проводился на основе генетически гетерогенной популяции мышей, сформированной в результате реципрокного скрещивания между мышами шести инбредных линий. Селекцию также проводили на крайние значения признака. Для этого, как и в предшествующем эксперименте

(Fuller, Herman, 1974), строили линию регрессии, позволяющую разграничить подходящие для размножения пометы (Попова и др., 1976, цит. по Перепелкина и др., 2013). Полученные линии - «Большой мозг» (БМ) и «Малый мозг» (ММ) - различались по числу клеток и объему новой и старой коры: размер данных областей был увеличен у мышей БМ на 22% и 17% соответственно в сравнении с ММ (Попова и др., 1983, цит. по Перепелкина и др., 2013).

В результате селекции наблюдалось не только расхождение двух линий по весу мозга, но и по поведению. Мыши БМ более активно исследовали экспериментальную установку, а также были более успешны в решении когнитивного теста на экстраполяцию (не во всех поколениях), а также в обучении с разным подкреплением (пища, удар током) (Попова и др., 1981; цит. по Перепелкина и др., 2013; Попова, Полетаева, 1983а, 1983б, 1985, цит. по Перепелкина и др., 2013).

Наблюдаемая корреляция между весом мозга и поведением могла быть результатом случайной ассоциации признаков из-за фиксации таких аллелей в небольшой популяции. Для того, чтобы разобраться в природе подобной взаимосвязи признаков, были проведены два дополнительных селекционных эксперимента. Во втором эксперименте исходная популяция была получена путем гибридизации, аналогичной таковой в первом. В третьем эксперименте популяция была сформирована из гибридов второго поколения, полученных от скрещивания мышей линий БМ и ММ второго эксперимента (Маркина и др., 1999а, 1999б, цит. по Перепелкина и др., 2013; Перепелкина и др., 2006). В

результате повторной селекции было обнаружено, что мыши линии БМ демонстрировали лучшие результаты в обучении, более высокий уровень исследовательской активности, в то время как у мышей ММ была более сильно выражена тревожность и стресс-реактивность (Маркина и др., 1999б, цит. по Перепелкина и др., 2013). Таким образом, данные повторных экспериментов опровергли возможную случайность корреляции между весом мозга и поведением.

Каждый из трех селекционных экспериментов характеризуется определенной динамикой изменения веса мозга у мышей двух линий. В первых двух экспериментах наблюдалось снижение веса мозга в линии ММ относительно слабых изменений данного показателя в линии БМ. Однако в третьем эксперименте отбор протекал противоположным образом, с более быстрым ростом веса мозга у мышей БМ, начиная с F8. Полученные различия по весу мозга между двумя линиями становились все более значительными, и к F22 разница в весе мозга составляла в среднем 16% (Перепелкина и др., 2013).

С момента получения 22 поколения эксперимент претерпел изменения: селекция была прекращена, подбор родителей для последующих поколений проводился случайным образом без изменения размера полученных пометов (Перепелкина и др., 2013; Перепелкина и др., 2019). Замер веса мозга показал сохранение значимых межлинейных различий по данному признаку и в условиях отсутствия селекции (Перепелкина и др., 2019).

Решение когнитивного теста на поиск входа в укрытие («понимание» правила неисчезаемости по Ж. Пиаже) было

более успешным у мышей БМ. Среди них было больше животных, нашедших лаз для проникновения в «безопасный» темный отсек даже в случае его маскировки, а также тративших меньше времени на этот процесс. Эти данные были получены для F28, F37 и F38, т.е. для 6, 15 и 16 поколений, разводившихся без селекции. Во время проведения селекции мыши БМ также успешнее справлялись с данным тестом (Перепелкина и др., 2013, Перепелкина и др., 2019). Данный тест, как и тест на экстраполяцию, относится к числу когнитивных и подразумевает понимание животным продолжения существования предмета при отсутствии его в поле зрения. Успешное выполнение проб этого теста с маскировкой лаза (см. раздел Методы) указывает на большую выраженность такого понимания у мышей БМ с сохранением подобных межлинейных различий и без селекции (Перепелкина и др., 2013).

Внутрибрюшинное введение этанола (12% раствор, доза 2,4 мг/кг) мышам двух линий, принадлежащих F28 (F6 в отсутствие селекции), вызвало изменения в уровне тревожности и исследовательской активности, выраженные у БМ и ММ в разной степени. После инъекции этанола мыши ММ (но не БМ) демонстрировали снижение тревожности, быстрее приступали к обследованию установок по сравнению с контролем. У мышей БМ после введения этанола наблюдалось повышение склонности к стереотипному поведению, что свидетельствовало о подавлении исследовательской активности этанолом (Перепелкина и др., 2013). Более выраженная чувствительность к этиловому спирту у мышей ММ наблюдалась и в предыдущем селекционном эксперименте

(Маркина и др., 1999а, цит. по Перепелкина и др., 2013), в то время как бОльшая стереотипность после введения данного вещества была характерна для поведения мышей ММ, а не БМ (Маркина и др., 2003).

Успешной оказалась селекция на относительный вес мозга у животных другого класса позвоночных – рыб. Гуппи, селектированные на большой вес мозга, быстрее привыкали к новой обстановке, демонстрируя при этом высокий уровень исследовательской активности, но были более осторожны по отношению к новой еде в сравнении с рыбками другой линии. У животных с более крупным мозгом был зафиксирован также более низкий уровень выделения кортизола – в ответ на стрессовое воздействие (избыточное освещение), что отражает их сниженный уровень стресс-реактивности. По способности к обучению рыбки с большим мозгом превосходили рыбок из другой линии (Kotrschal et al., 2013). Разница в весе мозга между линиями составила 9% (Kotrschal et al., 2013), однако в более поздних поколениях эта величина составила уже 15,4% (Marhounová et al., 2019). Межлинейные различия по общему числу нейронов составили 11,9%. Также были изучены особенности нейроморфологии конечного мозга: вес, количество нейронов и глиальных клеток были выше у рыбок, селектированных на высокие показатели веса мозга (Marhounová et al., 2019).

Линии рыбок гуппи, селектированных на большой и малый относительный вес мозга, различались по уровню экспрессии гена *Ang-1*. Белок, кодируемый геном, важен для процессов образования новых сосудов, а также для роста и развития нервной системы. Уровень его экспрессии был выше у рыбок из

линии с более крупным мозгом в сравнении с рыбками другой линии. Снижение экспрессии *Ang-1* у рыбок *Danio rerio* привело к уменьшению относительного размера мозга по сравнению с контролем. У рыбок-мутантов *D.rerio* и новорожденных гуппи с малым мозгом обнаружено повышение экспрессии транскрипционного фактора *Notch-1*, регулирующего дифференцировку клеток-предшественниц нейронов. В то же время у взрослых гуппи подобных изменений не выявлено. Следовательно, изменения в экспрессии *Ang-1* способны повлиять на экспрессию *Notch-1*, однако *Ang-1*, по всей видимости, может также влиять на размер мозга взрослого животного независимо от пути *Notch-1* (Chen et al., 2015).

В недавно выполненной работе (Van der Woude et al., 2019) описаны результаты селекционного эксперимента на относительный вес «мозга» у представителя беспозвоночных животных – паразитических ос *Nasonia vitripennis*. У полученных линий были обнаружены различия в объеме скоплений белого вещества (на 16% больше у насекомых с более крупным «мозгом»), а также в относительном объеме антеннальных долей (больше у насекомых с более крупным «мозгом»), связанных с обонятельной функцией. Обратные весу «мозга» различия наблюдались по параметру длины тела, которая была меньше у ос с крупным «мозгом». Отбор на относительный вес «мозга» привел к улучшению обонятельной памяти у насекомых обеих линий в сравнении с контролем (Van der Woude et al., 2019), в то время как селекция на абсолютный вес обнаружила преимущество у линии с более крупным «мозгом» (Van der Woude et al., 2018). При равных когнитивных

способностях осы, селектированные на большой относительный вес «мозга», имели более короткую продолжительность жизни (Van der Woude et al., 2019).

Суммируя все выше сказанное, можно заключить, что селекция на относительный вес мозга приводит к быстрому расхождению линий по данному признаку, а также неизменно сопровождается изменениями в поведении. Сохранение межлинейных различий у мышей после прекращения селекции доказывает причинную связь между признаками веса мозга и поведения. Успешность результатов селекции, проведенной на животных разных классов и даже типов, позволяет расширить круг экспериментальных объектов. Все это определяет актуальность данной проблемы для нейробиологических исследований и анализа эволюции когнитивных способностей.

### **1.3. Физиология стресса**

#### **1.3.1. Концепции стресса**

Первые работы, имеющие отношение к исследованию стресса, были выполнены физиологом 19 века Клодом Бернаром. Он сформировал представление о постоянстве внутренней среды, которое поддерживается благодаря компенсирующим физиологическим механизмам и делает существование организмов более независимым от условий окружающей среды (Bernard, 1859 цит. по Fink, 2016; Bernard, 1878 цит. по Johnson et al., 1992). В начале 20 века данная концепция получила развитие в работах физиолога Уолтера Кэннона, предложившего термин «гомеостаз» и определявший его как динамическое постоянство внутренней среды организма, достигаемое за счет гибкого приспособления к

меняющимся условиям внешней среды (Cannon, 1935 цит. по Куприянов, Жданов, 2014). Одновременно с этим Кэннон описал острую реакцию животных на действие угрожающих гомеостазу стимулов, которую он назвал «бей или беги» («fight or flight» response), и указал на ее регуляцию со стороны симпатoadреналовой системы (Cannon, 1932 цит. по Fink, 2016; Johnson et al., 1992). Основываясь на изучении реакции «бей или беги», Кэннон предложил термин «стресс» как состояние напряжения, вызванное угрозой гомеостаза (Cannon, 1935 цит. по Simm, Klotz 2015).

Чуть позже, в работе 1936 года Ганс Селье (Selye, 1936 цит. по Fink, 2016) сообщил, что воздействие вредоносными агентами, среди которых холод, хирургическая травма или интоксикация различными химическими веществами, приводило к формированию у крыс одинаковой физиологической реакции, не зависящей от природы агента. Эта реакция адаптации к неблагоприятным воздействиям получила название общий адаптационный синдром (ОАС), а впоследствии – стресс. Селье выделил три стадии ОАС: 1) стадия тревоги, соответствующая реакции «бей или беги», 2) стадия резистентности с характерным исчезновением симптоматики предыдущей стадии и 3) стадия истощения, на которой возможно возвращение симптомов и даже летальный исход. Таким образом, способность организма адаптироваться к изменениям окружающей среды (адаптационная энергия) ограничена, и длительное воздействие агента может стать причиной развития патологических состояний (Selye, 1936 цит. по Fink, 2016; Selye, 1950). Селье обратил внимание, что важнейшую роль в развитии синдрома, наряду с

симпатоадреналовой системой, играет гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось (Selye, 1936 цит. по Fink, 2016). Первоначально, рассматривая стресс как ответ организма на угрожающие агенты, в более поздних работах Селье сообщал, что такой же ответ вызывали агенты, воспринимаемые организмом как приятные или полезные. В связи с этим им было расширено понятие ОАС (стресса) – это неспецифическая реакция организма на любое предъявление требования, а агенты, выступающие в качестве такого требования и провоцирующие стресс, назвали стрессорами (Selye, 1950; Selye, 1975). Также он разделил стресс на эу- и дистресс в зависимости от интерпретации стрессора (приятный/полезный и неприятный/вредоносный, соответственно) (Selye, 1975). В своей работе 1976 года Селье признавал, что поддержание физиологического равновесия через гомеостаз (стабильность через постоянство) само по себе не может обеспечить стабильность систем организма в условиях стресса. И он ввел термин «гетеростаза» для описания процесса, посредством которого новое устойчивое состояние может быть достигнуто благодаря адаптивным механизмам (Selye, 1976 цит. по Fink, 2016).

Подобный взгляд Г. Селье стал предвестником появления нового взгляда на теорию стресса – теории аллостаза, предложенной в 1980-х годах П. Стерлингом (P. Sterling) и Дж. Айером (J. Eyer) и получившей дальнейшее развитие в работах Б. Мак-Ивена (B. McEwen). Под аллостазом (буквально – стабильность через изменение) они понимают процесс, с помощью которого организм поддерживает необходимые для существования физиологические параметры (гомеостаз) через

изменение своего состояния и поведения (Sterling, Eyer, 1988 цит. по McEwen, 2007; McEwen, Wingfield, 2003; Куприянов, Жданов, 2014). Различные события повседневной жизни вызывают нарушение гомеостаза, что в свою очередь приводит к активации регуляторных систем и нарушению баланса «медиаторов» (глюкокортикоидов, катехоламинов и др.) вследствие избыточной продукции одних «медиаторов» и недостатка других, т.е. к переходу в аллостатическое состояние (McEwen, Wingfield, 2003; McEwen, 2007; Куприянов, Жданов, 2014). Оно может поддерживаться в течение ограниченного периода, пока запас энергии в организме достаточен, и в норме сменяется достижением гомеостаза на ином уровне и освоением новых форм поведения и адаптационных стратегий. Цена, которую организм платит за адаптацию к неблагоприятным явлениям, получила название «аллостатическая нагрузка» (McEwen, 2000). Сохранение дисбаланса в течение длительного времени и увеличение аллостатической нагрузки создает условия для развития патологий (McEwen, Wingfield, 2003; McEwen, 2007; Куприянов, Жданов, 2014). Стресс в рамках данной концепции связан с понятием аллостатической нагрузки и является частью аллостаза (McEwen, Wingfield, 2003). Посредством аллостаза организмы активно приспосабливаются к предсказуемым, рутинным и неожиданным событиям, и следует различать «плохой» и «хороший» стресс (McEwen et al., 2015).

Мозг – центральный орган, участвующий в восприятии и адаптации к стрессорам как на уровне физиологических систем, так и на поведенческом уровне (McEwen et al., 2015). Механизмы, при помощи которых структуры мозга регулируют

развитие стрессовой реакции, реализуются главным образом через действие ряда гормонов, таких как кортиколиберин (кортикотропин-рилизинг-гормон, КРГ), аргинин-вазопрессин (АВП) и глюкокортикоиды.

### **1.3.2. Гормоны стресса**

В ответ на действие стрессора, вскоре после реализации быстрого ответа симпатoadреналовой системы, происходит активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), которая начинается с синтеза КРГ и АВП и запускает каскад процессов, приводящих к синтезу и высвобождению глюкокортикоидов из коры надпочечников. Глюкокортикоиды действуют периферически, обуславливая ряд вегетативных реакций, но также «возвращаются» в ЦНС, чтобы контролировать интенсивность и продолжительность стрессовой реакции, а также реализовывать поведенческий ответ.

Основным источником КРГ является паравентрикулярное ядро гипоталамуса (ПВЯ), но синтез КРГ также происходит и в миндалине. Рецепторы КРГ широко представлены в структурах мозга, что показывает его важное значение в регуляции стресс-реакции (Gunnar, Quevedo, 2007). Различают два типа КРГ-рецепторов, опосредующих разные эффекты: влияние рецептора первого типа (CRHr1) связано с формированием тревожного поведения и страха, а рецептор второго типа (CRHr2) задействован в реализации вегетативных реакций стресса (Bale, Vale, 2004 цит. по Gunnar, Quevedo, 2007). Различие в функции рецепторов нашло отражение и в их распределении: рецепторы первого типа многочисленны в кортико-лимбической системе и в аденогипофизе, рецепторы

второго типа – в подкорковых структурах (Wong et al., 1994 цит. по Tsigos, Chrousos, 2002).

Одной из главных мишеней для КРГ является норадренергическая система, включающая голубое пятно, расположенное на уровне моста, и его восходящие проекции в разные отделы головного мозга, в том числе в кортико-лимбическую систему, а также проекции к преганглионарным нейронам симпатической вегетативной системы в спинном мозге. Голубое пятно и КРГ-секретирующие клетки ПВЯ имеют прямые входы, посредством которых КРГ и норадреналин взаимно влияют на синтез данных веществ (Tsigos, Chrousos, 2002; Myers et al., 2017). Модуляция активности ГГНС со стороны нейронов голубого пятна зависит от длительности и интенсивности стрессора (Armario et al., 2012 цит. по Myers et al., 2017) и связана с развитием стресс-индуцированной тревоги (McCall et al., 2015 цит. по Myers et al., 2017). Активация нейронов голубого пятна может быть вызвана действием стрессоров разной модальности, что отражает значимость данной структуры для процессов интеграции физических и психологических стрессоров и, как следствие, быстрого стрессового ответа организма (Godoy et al., 2018).

Синтез АВП, как и КРГ, осуществляют клетки ПВЯ. Рецепторы АВП (V1a и V1b, V2, V3), наряду с эндокринной и вегетативной функциями, задействованы в координации суточного ритма, социального поведения, реализации обучения и памяти (Ring, 2005).

Основной эффект глюкокортикоидов заключается в ингибировании активности ГГНС, и как следствие, стрессовой реакции. Их действие реализуется, главным образом, через

регуляцию экспрессии генов. В ходе этой реализации молекулы гормонов связываются с рецепторами, которые затем перемещаются в ядро и там взаимодействуют со специфическими чувствительными к глюкокортикоидам регуляторными элементами в ДНК (Меркулов, Меркулова, 2006) для активации соответствующих генов. Кроме этого, активированные рецепторы через белок-белковые взаимодействия ингибируют другие факторы транскрипции, такие как c-jun/c-fos и NF- $\kappa$ B, которые являются регуляторами транскрипции многих генов, участвующих в активации и росте иммунных и других клеток (Scheinman et al., 1995 цит. по Tsigos, Chrousos, 2002). Также глюкокортикоиды изменяют стабильность мРНК и, следовательно, могут затрагивать трансляцию отдельных белков. Подобный геномный механизм действия глюкокортикоидов обеспечивает замедленный, отложенный эффект тормозной обратной связи. В то же время быстрый эффект глюкокортикоидов проявляется в течение нескольких минут после роста их концентрации и осуществляется через «негеномный» механизм, который осуществляется через систему эндоканнабиноидов (Evanson et al., 2010 цит. по Herman et al., 2016; Riebe, Wotjak, 2011).

Необходимо отметить, что секреция глюкокортикоидов, а также КРГ и АВП (Tsigos, Chrousos, 2002) происходит и в отсутствии стрессоров, следуя циркадному ритму, где пик секреции приходится на раннее утро у человека и на начало вечера – у грызунов (Reppert and Weaver, 2002 цит. по Godoy et al., 2018). Влияние глюкокортикоидов в базальных концентрациях, например, поддержание чувствительности нейронов к нейромедиаторам, а также уровня активации ГГНС

и артериального давления, опосредуются, как правило, через их взаимодействие с минералокортикоидными рецепторами (МР) (Sapolsky et al., 2000 цит. по Gunnar, Quevedo, 2007). Однако большинство эффектов, связанных с развитием стресс-реакции, осуществляется через глюкокортикоидные рецепторы (ГР).

Длительность и частота воздействия стрессора оказывает влияние на характер эндокринного ответа ГГНС. Такое воздействие может быть острым и хроническим. Острое воздействие стрессора – это его относительно короткое однократное воздействие. Хроническое воздействие – это длительное однократное воздействие, либо повторяющееся воздействие одного (гомотипического) стрессора или комплексного (гетеротипического) стрессора, включающего смену действий разных факторов (Riebe, Wotjak, 2011).

В развитии острой стрессовой реакции важнейшее значение имеет функция ПВЯ. Она необходима как для стимуляции реакции "бей или беги" (совместно с симпатoadреналовой системой – см. раздел «Стресс: физические факторы»), так и для подавления острого ответа (Solomon et al., 2015; Godoy et al., 2018). Выделение глюкокортикоидов (клетками коры надпочечников) приводит к подавлению активности ГГНС через негеномный механизм воздействия. Однако в ряде структур мозга, содержащих рецепторы к глюкокортикоидам, острое действие стрессора оказывает обратный эффект, выражающийся в усилении возбуждения. К таким структурам относятся гиппокамп (поле СА1), базолатеральное ядро (БЛ) миндалины и префронтальная кора (ПФК) (Godoy et al., 2018).

Развивающийся позже «отложенный» эффект глюкокортикоидов, проявляется в указанных структурах по-разному. В поле СА1 гиппокампа активация ГР приводит к изменению синаптической пластичности: к усилению долговременной депрессии и ухудшению долговременной потенциации, а активация МР – к противоположным эффектам. В то же время в БЛ и ПФК сохраняется активация (Godoy et al., 2018).

Хроническое воздействие стрессора приводит к более глубоким изменениям в функции ряда структур мозга. При повторяющемся действии гомотипического стрессора происходит «привыкание» ГГНС, что выражается в снижении продукции глюкокортикоидов (Dhabhar et al., 1997 цит. по Herman et al., 2016; Gong et al., 2015). Однако ответ ГГНС может различаться в зависимости от интенсивности стрессора: хроническое действие высокоинтенсивного стрессора «привыкания» не вызывает (Figueiredo et al., 2003a цит. по Herman et al., 2016). Увеличение продолжительности иммобилизации животного с 0,5 до 3 ч/сут в течение пяти дней привело к росту активности нейронов ПВЯ (Gray et al., 2010).

В случае хронического действия нескольких стрессоров ответ ГГНС происходит в ответ на действие каждого стрессора, и, следовательно, глюкокортикоидная нагрузка накапливается и увеличивается. Часто это сопровождается увеличением размеров надпочечников (Ulrich-Lai et al., 2006 цит. по Herman et al., 2016).

Результатом хронического действия стрессора может быть увеличение базальных концентраций глюкокортикоидов (Ulrich-Lai et al., 2006 цит. по Herman et al., 2016), которое

определяется дальнейшим ослаблением глюкокортикоидной обратной связи и снижением числа ГР в гиппокампе (Kitraki et al., 2004) и ПФК (а также В ПВЯ) (Herman et al., 2016). В нейронах поля СА1 гиппокампа наблюдалась также потеря шипиков, что влекло за собой нарушение индукции долговременной потенциации. При хроническом действии стрессоров в поле СА3 и зубчатой извилине, а также в ПФК было отмечено уменьшение плотности дендритов. Напротив, для нейронов БЛ миндалины, прилежащего ядра и орбитофронтальной коры характерно увеличение числа дендритов и повышенная возбудимость (McEwen et al., 2016; Godoy et al., 2018).

Хроническое действие стрессора ингибирует нейрогенез в зубчатой извилине гиппокампа, влияя на процессы пролиферации, дифференцировки и выживаемости клеток (Schoenfeld, Gould, 2012; Chetty et al., 2014). В то же время повышение уровня глюкокортикоидов во время физической активности, при пребывании в обогащенной среде и после обучения приводит к увеличению объема зубчатой извилины и числа нейронов, т.е. к поддержанию нейрогенеза взрослого мозга. Возможное объяснение парадоксального эффекта глюкокортикоидов на нейрогенез заключается в гедонистическом компоненте, который сопровождает такие виды активности (Schoenfeld, Gould, 2012).

Развитие хронической стрессовой реакции затрагивает и размеры данных структур. У мышей, с повышенной экспрессией КРГ и повышенным уровнем глюкокортикоидов (кортикостерона), объемы гиппокампа, миндалины, а также ПВЯ были значительно меньше по сравнению с этими

показателями у мышей дикого типа. У этих мышей была уменьшена толщина сенсомоторной и передней поясной коры, а также, в целом, уменьшена масса мозга и мозжечка (Goebel et al., 2010). Сходные изменения обнаружены в мозге людей, страдающих заболеваниями, связанными со стрессом, например, посттравматическим стрессовым расстройством (ПТСР) и синдромом Кушинга (Simmons et al., 2000; Bremner, 2006; Kribakaran et al., 2020).

Описанные выше эффекты глюкокортикоидов на лимбические структуры мозга реализуются путем высвобождения глутамата и КРГ в миндалине, но также и через активность ряда биологически активных молекул, таких как эндоканнабиноиды и липокалин-2 (McEwen et al., 2016). Хроническое действие стрессора (в случае иммобилизации) изменяет экспрессию BDNF, влияющего на развитие дендритов (Lakshminarasimhan, Chattarji, 2012): повышение экспрессии BDNF обнаружено в БЛ миндалине, снижение экспрессии – в поле СА3 гиппокампа. Острое воздействие этого стрессора также усиливает экспрессию BDNF в БЛ миндалине, но не в поле СА3.

Действие глюкокортикоидов связано с активностью веществ, регулирующих размеры мозга (см. раздел «Гены и мозг»). К ним относится, в частности, фактор роста фибробластов 2 (FGF2) (Salmaso et al., 2016). Основная роль FGF2 заключается в поддержании соответствующего уровня экспрессии ГР в гиппокампе (но не в миндалине), координирующем активность ГГНС (Salmaso et al., 2016).

Морфологические изменения в гиппокампе, миндалине и ПФК сопровождались усилением тревожности и нарушениями

в обучении и памяти (Mitra, Sapolsky, 2008; Joëls et al., 2013; McEwen et al., 2016).

Таким образом, действие стрессора вызывает активацию ГГНС, что приводит к изменению концентраций гормонов (КРГ, АВП, глюкокортикоиды и др.), которые, в свою очередь, связываются с соответствующими рецепторами и вызывают целый ряд реакций структур мозга. Спровоцированные действием стрессора морфологические и физиологические изменения мозга сопровождаются возрастанием уровня тревожности, а также нарушением когнитивных способностей.

### **1.3.3. Стресс: физические факторы**

Запуск стресс-реакции начинается с детекции стрессора. Выделяют физические («реактивные», reactive), вызывающие прямое нарушение гомеостаза, и психологические («прогностические», anticipatory) стрессоры, предвосхищающие гомеостатическое нарушение на основании предшествующего опыта или видоспецифических предрасположенностей (Herman et al., 2003).

Воздействие физического стрессора требует немедленного системного ответа, реализация которого начинается с активации ядер ствола мозга посредством поступления сигналов о нарушении гомеостаза, таких как боль, воспаление, потеря артериального давления и др., от структур спинного мозга (Godoy et al., 2018). Вовлечение вентролатеральной области рострального отдела продолговатого мозга приводит к мобилизации симпатoadренальной системы, образованной структурами симпатического отдела вегетативной нервной системы (ВНС) и мозговым веществом надпочечников, и выделению катехоламинов (адреналина и норадреналина)

(Gunnar, Quevedo, 2007; Ulrich-Lai, Herman, 2009). Симпатическая активация обеспечивает быструю физиологическую адаптацию, приводящую к кратковременным реакциям (настороженность, бдительность и оценка ситуации), т.е. реакцию "бей или беги", впервые описанную У. Кэнноном. Мобилизация парасимпатического отдела ВНС также осуществляется рядом ядер, расположенных в продолговатом мозге (*nucleus ambiguus*, дорсальным ядром блуждающего нерва), и участвует в контроле продолжительности вегетативных реакций (Ulrich-Lai, Herman, 2009).

Возбуждение структур ствола мозга вследствие влияния физического стрессора вызывает также и мобилизацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), которая, в отличие от симпатоадреналовой системы, вызывает длительный секреторный ответ и реакции (Tsigos, Chrousos, 2002; Gunnar, Quevedo, 2007; Herman et al., 2016; Godoy et al., 2018). Как упоминалось выше, воздействие стрессора приводит к активации популяции парвоцеллюлярных нейронов ПВЯ, выделяющих либерины, в том числе КРГ и АВП, которые попадают в портальную систему гипофиза. Эти гормоны действуют на аденогипофиз, стимулируя секрецию адренокортикотропного гормона (АКТГ), который, в свою очередь, воздействует на внутренние слои коры надпочечников. В конечном итоге каскад этих процессов инициирует синтез и высвобождение глюкокортикоидных гормонов (кортикостерона у грызунов и кортизола у человека). Они транспортируются в различные области периферии, способствуя мобилизации накопленной энергии, а также, в отличие от катехоламинов, проходят через

гематоэнцефалический барьер, воздействуя непосредственно на мозг.

Уровень активности ГГНС в условиях действия стрессора определяется балансом возбуждения и торможения в нейронах ПВЯ, получающих множественные медиаторные сигналы от ядер ствола, гипоталамуса и других отделов мозга (Herman et al., 2016). Активирующий ГГНС эффект оказывают нор- и адреноергические проекции из ядра солитарного тракта и голубого ядра, серотониновый вход – из ядер шва, расположенных в среднем мозге, причем влияние идет как на КРГ-секретирующие клетки паравентрикулярного ядра, так и на окружающие ПВЯ области. ПВЯ получает также глутаматергические проекции, источники которых – гипоталамические ядра и ядро солитарного тракта. Более того, в ПВЯ есть глутаматергические нейроны, которые также могут влиять на ось ГГН. Помимо проекций окончаний нейронов с «классической» нейромедиаторной специфичностью, ПВЯ получает возбуждающие нейропептидные проекции. Это глюкагоноподобный пептид-1 из ядра солитарного тракта, ангиотензин-2 из субфорикулярного органа, альфа-меланоцитстимулирующий гормон из аркуатного ядра гипоталамуса, нейропептид Y из ряда структур мозга.

Активация перечисленных отделов, посылающих проекции к нейронам ПВЯ, происходит в ответ на воспаление, боль, изменение объема циркулирующей крови (ядро солитарного тракта), нарушение водно-солевого баланса (субфорикулярный орган), нарушение метаболизма (аркуатное ядро) (Herman et al., 2016).

В то же время не менее важное значение имеют механизмы, ограничивающие, наряду с эффектом глюкокортикоидов, активацию ГГНС. Лимбические структуры переднего мозга могут способствовать обработке сигналов от физических стрессоров, влияя на вегетативные реакции и на активацию ГГНС через структуры-посредники, имеющие ГАМК-ергические входы в ПВЯ (см. раздел «Психологические стрессоры»). Тормозной модулирующей активностью обладают и нейропептидергические проекции (соматостатин, энкефалин) (Herman et al., 2016).

По мере формирования организмом адаптивного ответа происходит взаимодействие между структурами двух стрессовых физиологических систем. Клетки ПВЯ гипоталамуса посылают прямые проекции на преганглионарные нейроны симпатической нервной системы, оказывая влияние на секрецию катехоламинов (Ulrich-Lai, Herman, 2009). Еще один механизм опосредован связью ПВЯ с голубым пятном (источником норадреналина в мозге, см. раздел «Гормоны стресса»), которое также имеет выход на преганглионарные нейроны. В свою очередь, кора надпочечников непосредственно иннервируется симпатической нервной системой, которая может регулировать высвобождение кортикостероидов (Ulrich-Lai, Herman, 2009). Таким образом, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось и симпатoadреналовая система оказывают взаимодополняющие действия, включая мобилизацию энергии и поддержание давления крови во время стресса.

### **1.3.4. Психологические стрессоры: иммобилизация**

Ответ организма, вызванный действием психологических стрессоров, характеризуется рядом особенностей: 1) его обеспечивает нисходящая сигнализация от лимбических структур: вентрального гиппокампа, медиальной префронтальной коры (мПФК), а также миндалины (медиального, центрального и базолатерального ядер); 2) эти структуры не имеют прямых проекций в ПВЯ, но промежуточными звеньями передачи сигнала к КРГ-продуцирующим нейронам являются ядро ложа конечной полоски и гипоталамические ядра, среди которых медиальное преоптическое, дорсомедиальное и заднее гипоталамические ядра, а также группы нейронов, расположенные в непосредственной близости от ПВЯ (периПВЯ). Промежуточные структуры имеют ГАМК-ергические входы на нейроны ПВЯ (Ulrich-Lai, Herman, 2009).

Иммобилизация относится к числу психологических, «прогностических», стрессоров, и для реакции организма, вызванной обездвиживанием, указанные выше особенности также характерны (Dayas et al., 2001; Riebe, Wotjak, 2011).

Миндалина имеет сложную структуру. Иммобилизационное воздействие активирует медиальное и базолатеральное (БЛ) ядра, но не центральное ядро (Cullinan et al., 1995; Dayas et al., 2001). Повреждение медиального и базолатерального ядер миндалины приводит к спаду стресс-индуцированной активности нейронов ПВЯ и ингибированию ГГНС (Dayas et al., 1999; Bhatnagar et al., 2004). Вероятный механизм влияния структур миндалины осуществляется через торможение ГАМК-ергических нейронов в ядре ложа конечной

полоски и гипоталамических ядрах, связанных с ПВЯ, что вызывает «растормаживание» ГГНС (Prewitt, Herman, 1998).

Контроль мПФК над ГГНС достаточно сложен. Двустороннее повреждение мПФК нарушает характерный тормозный эффект, наблюдаемый при иммобилизационном стрессе, и усиливает активацию ПВЯ, а также изменяет активность медиального (но не центрального) ядра миндалины тела, поля СА3 гиппокампа (но не СА1 и зубчатой извилины), пириформной коры. Активность структур оценивали по уровню экспрессии в них гена *c-Fos*. Таким образом, мПФК вызывает торможение ГГНС через дифференцированную активацию связанных со стрессом областей мозга (Figueiredo et al., 2003b).

В префронтальной коре свой вклад в активацию и подавление стрессовых реакций вносят популяции нейронов разных ее отделов. Разрушение дорсальной мПФК (прелимбической коры) увеличивает секрецию КРГ нейронами ПВЯ в ответ на иммобилизацию, в то время как удаление вентральной мПФК (инфраламбической коры) снижает активность КРГ-синтезирующих нейронов, но активирует группы нейронов ПВЯ, участвующих в вегетативном контроле (Radley et al., 2006). Кроме того, эти отделы мПФК играют противоположные роли в регуляции тревожного поведения: повреждение в дорсальном участке приводит к развитию анксиогенного эффекта, в то время как повреждение в вентральном – к анксиолитическому эффекту (Sullivan, Gratton, 2002). Таким образом, активация прелимбической коры тормозит синтез КРГ и стрессовую реакцию, активация инфраламбической коры приводит к обратному результату.

Важная роль в снижении ответа на действие стрессора осуществляется также клетками гиппокампа, в частности, его вентральным и дорсальным отделами. Дорсальный гиппокамп связан преимущественно с обеспечением когнитивных функций, в то время как вентральный – с формированием эмоциональных реакций, спровоцированных действием стрессора, и поэтому он более стресс-чувствителен, чем дорсальный отдел (Fanselow, Dong, 2010; Hawley et al., 2012). Повреждение гиппокампа (вентрального субикулюма) повышает секрецию глюкокортикоидов и удлиняет реакцию организма на иммобилизацию, нарушая реализацию быстрого, негеномного эффекта глюкокортикоидов. У животных с разрушением субикулюма усиливался синтез КРГ, в то время как кратковременная иммобилизация вызывала при этом истощение КРГ. Вероятно, поражение вентрального субикулюма связано с нарушением тормозного непрямого входа в ПВЯ (Herman et al., 1998).

Проекции мПФК и гиппокампа поступают к нейронам ядра ложа конечной полоски (BNST), через которые опосредуют тормозное влияние на ПВЯ и развитие стресса (Radley, Sawchenko, 2011). Это ядро функционально неоднородно, его передний и задний отделы играют разную роль в интеграции и обработке нисходящих сигналов. Так, повреждение передне-центральной части BNST снижает концентрации глюкокортикоидов в плазме в ответ на иммобилизацию, но не влияет на синтез КРГ и АВП нейронами ПВЯ. Повреждение задней части BNST, напротив, приводит к повышению уровня АКТГ и глюкокортикоидов, а также усиливает синтез КРГ и АВП. Эти данные свидетельствуют о том, что передне-

центральный отдел этого ядра участвует в активации ГГНС во время стресса, а задний отдел – в ее торможении (Choi et al., 2007).

Передний отдел BNST включает популяции как тормозных, так и возбуждающих нейронов (Radley, Sawchenko, 2011). Глутаматергические пути из дорсальной мПФК (прелимбической коры) и вентрального гиппокампа (субикулюма) иннервируют группу ГАМКергических нейронов в передней части ядра, и это индуцирует торможение ПВЯ при иммобилизационном стрессе. Инфраламбический путь предположительно проецируется на не-ГАМК-ергические нейроны в передней части BNST и стимулирует ПВЯ (Radley, Sawchenko, 2011; Radley, 2012).

Несколько гипоталамических областей обеспечивают опосредованное взаимодействие между нисходящим лимбическим входом и КРГ-секретирующими нейронами ПВЯ. Медиальное преоптическое ядро (МПЯ) обеспечивает ГАМК-ергическую иннервацию ПВЯ. Разрушение МПЯ усиливает реакцию ГГНС, а локальная инактивация усиливает высвобождение АКТГ в ответ на иммобилизацию (Viau, Meaney, 1996 цит. по Ulrich-Lai, Herman, 2009). Инактивация МПЯ приводит к усилению тахикардии и повышению температуры тела, что обеспечивает связь между лимбическими сигналами и физиологическими регуляторными процессами (Fassini et al., 2017). Иммобилизация приводит также к активации дорсомедиального ядра гипоталамуса и передней гипоталамической области (Cullinan et al., 1995).

Реализация глюкокортикоидной обратной связи частично может быть опосредована нейронами ядра солитарного тракта,

посылающего большое число проекций к клеткам ПВЯ. Блокада глюкокортикоидного рецептора (ГР) в клетках этого ядра усиливает активацию ПВЯ и высвобождение глюкокортикоидов после острого иммобилизационного воздействия (Ghosal et al., 2014). Следует отметить, что нейроны ядра солитарного тракта получают прямые проекции от инфраламбической коры (Schwaber et al., 1982 цит. по Nerman et al., 2016).

Таким образом, развитие стресса - активация ГГНС и вегетативной нервной системы, вызванные действием психологического стрессора (иммобилизации), опосредованы нисходящей регуляцией со стороны кортико-лимбической системы. Её структуры не имеют прямых проекций на КРГ-синтезирующие нейроны ПВЯ, и поэтому запуск ГГНС происходит через переключение сигналов в BNST и гипоталамических ядрах, а также в структурах ствола мозга, имеющих входы на ПВЯ. Эти промежуточные структуры выполняют важную роль в интеграции психологических стимулов и физиологических реакций.

#### **1.4. Стресс и поведение**

Воздействие стрессора вызывает совокупность физиологических и поведенческих реакций, которые заметно изменяют метаболическое и эмоциональное состояние организма. Адаптация к спровоцированному стрессором нарушению гомеостаза в течение длительного времени увеличивает аллостатическую нагрузку на организм и создает условия для формирования патологических состояний (McEwen, Wingfield, 2003).

У человека обнаружена целая группа заболеваний, связанных с развитием стресса, к числу которых относят посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР), депрессию и тревожные расстройства (Ehlert et al., 2001; Smoller, 2013; Godoy et al., 2018). Согласно МКБ-10, критериями ПТСР являются повышенный уровень бодрствования, усиленный рефлекс четверохолмия (вздрагивание), раздражительность и вспышки гнева, усиленная настороженность. Для депрессии (по МКБ-10) характерны подавленное настроение, ангедония, утомляемость, чувство тревоги, страх, нестабильный аппетит и изменение веса. Симптомы тревожных расстройств по МКБ-10 включают ощущение страха, мышечное напряжение, потливость, дрожь, головокружение и др.

У пациентов с данными недугами выявлено изменение уровня активности ГГНС: в ответ на психосоциальный стрессор у больных с депрессией и тревожными расстройствами обнаружен более высокий уровень кортизола, а у пациентов с ПТСР он был более низким, чем у здоровых участников исследования (Zorn et al., 2017). В то же время данные по стресс-индуцированному уровню кортизола у пациентов с ПТСР противоречивы (Godoy et al., 2018). Более того, стресс рассматривают как фактор риска развития шизофрении (Holtzman et al., 2013 цит. по Zorn et al., 2017) и биполярного расстройства (Agnew-Blais, Danese, 2016 цит. по Zorn et al., 2017).

Воссоздание острого и хронического стресса у животных выявило схожие сопряженные со стрессом изменения в поведении. Применение различных тестов позволяет оценить

уровни тревожности и исследовательской активности, депрессивно-подобное поведение, когнитивные способности. Так, изучение тревожности и исследовательского поведения проводят в тестах «открытое поле» (Tanaka et al., 2012), «приподнятый крестообразный лабиринт» (Korte, De Boer, 2003), «темно-светлая камера» (Campos et al., 2013), в тесте на гипонеофагию (Campos et al., 2013) и т.д. Тест Порсолта для крыс и его видоизмененная форма для мышей – «неизбегаемая скользкая воронка» (Salimov, 1999) – разработаны для выявления поведения, подобного депрессии. Исследование когнитивных способностей проводят с использованием методик «Т-образный лабиринт» (Adams et al., 2008), а также теста на экстраполяцию (Перепелкина и др., 2019) и др.

Острое воздействие стрессора изменяло уровень исследовательской активности. Иммобилизация, как и принудительное плавание в холодной воде, подавляли исследовательское поведение (стойки) у мышей. Оказалось, что этот эффект был четче выражен при плавании в холодной воде. Проявление исследовательского поведения зависит от особенностей строения гиппокампа (Lever et al., 2006), а он, в свою очередь, является мишенью для глюкокортикоидов. Следовательно, проявление исследовательской реакции может изменяться в ответ на действие стрессора. Более того, плавание подавляло уровень общей двигательной активности (Sturman et al., 2018). В другой работе кратковременное иммобилизационное воздействие, напротив, вызывало усиление исследовательской активности (Zimprich et al., 2014). Различия в результатах, вероятно, обусловлено разным базальным уровнем

активации стрессовых систем (Sturman et al., 2018), а, возможно, и особенностями тестирования.

Предъявление стрессора вызывает у мышей повышение тревожности. Острое (Sturman et al., 2018) и хроническое иммобилизационное воздействие (Chiba et al., 2012), а также факторы в контексте парадигмы непредсказуемого мягкого стресса (Zhu et al., 2014) приводили к росту уровня тревоги (например, происходило снижение числа входов в открытые рукава ПКЛ и времени нахождения в центре «открытого поля») по сравнению с контрольными мышами. В случае непредсказуемого стресса мышам в новой обстановке (тест на гипонеофагию) требовалось больше времени, чтобы подойти к пище, что также было показателем тревожного поведения. Однако после иммобилизации мыши съедали несколько больше пищи, чем контроль (Zhu et al., 2014), демонстрируя снижение тревожности, вызванной новизной.

Развитие тревожности в случае стрессовой реакции, вызванной хищником, носит градуированный характер: наибольший уровень тревоги наблюдается при прямом контакте мыши с хищником, более низкий уровень – в ответ на его запах (Adamec et al., 2004).

Применение оптогенетических методов позволило установить важность связи базолатерального ядра миндалины и мПФК в формировании тревожного и социального поведения: активация этой связи повышала уровень тревоги и подавляла социальное взаимодействие, в то же время ее торможение оказывало противоположный эффект (Felix-Ortiz et al., 2016).

Модель однократного продолжительного действия стрессора (single prolonged stress) подразумевает

последовательное предъявление трех высокоинтенсивных воздействий: 2-часовой иммобилизации, принудительного плавания в течение 20 минут, вдыхания диэтилового эфира до потери сознания (Aspesi, Pinna, 2019). Подобное комплексное воздействие стрессоров привело к усилению страха у мышей и сопровождалось усилением экспрессии глюкокортикоидного рецептора в дорсальном гиппокампе, а также снижением уровня глутамата в ПФК (Perrine et al., 2016).

Формирование депрессивно-подобного поведения также сопровождается развитием стрессовой реакции. Действие на мышей в течение четырех недель набора низкоинтенсивных стрессоров (непредсказуемый мягкий стресс) приводило к значительному снижению прироста массы тела и потребления раствора сахарозы (ангедонии), а также к возрастанию неподвижности в тесте принудительного плавания Порсолта (Zhu et al., 2014), т.е. развитию депрессивного фенотипа. Хроническое иммобилизационное воздействие оказывало такой же эффект (Ngoupraye et al., 2018).

Сходное изменение поведения было обнаружено и у мышей, подвергшихся однократной 24-часовой иммобилизации: у них также была обнаружена ангедония и преобладание иммобильности в тесте Порсолта. При этом стресс-индуцированных проявлений тревожности замечено не было (Chu et al., 2016). В ходе данной работы было обнаружено вызванное стрессорным воздействием изменение экспрессии ряда генов в гиппокампе и ПФК. Это были гены дофаминовых рецепторов D1 и D2, чья активность изменена у пациентов с шизофренией, серотонинового рецептора 5HT1a, задействованного в регуляции ГГНС (см. раздел «Генетический

контроль стресса»), а также гены, связанные с процессами миелинизации. Депрессивно-подобное поведение, связанное с развитием стрессорной реакции, было нейтрализовано при помощи антидепрессанта флуоксетина (Chu et al., 2016).

Действие стрессора и увеличение концентрации глюкокортикоидов влияют на морфологию и функцию лимбических структур мозга, и, как следствие, на когнитивные способности. Инъекция кортикостерона с последующей 2-часовой иммобилизацией приводили к появлению у мышей характерных для депрессивного поведения признаков, описанных выше. Наряду с этим, после такого воздействия мыши хуже справлялись с когнитивными тестами – тестом водного лабиринта Морриса, задачей на узнавание (novel object recognition task), демонстрируя нарушение пространственной и эпизодической памяти, а также обучения (Ngoupraye et al., 2018). Интересно отметить, в работе на крысах (Xu et al., 2017) затруднение выработки условного и инструментального рефлексов, вызванное хронической иммобилизацией, было связано с нарушением мотивации получения вознаграждения.

Таким образом, развитие стресса сопряжено с повышением уровня тревожности, формированием депрессивно-подобного поведения и страха, а также с нарушением когнитивных способностей. В основе этих явлений лежит изменение морфологии и физиологии кортико-лимбических структур мозга, вызванное активацией стрессовых систем организма.

## 1.5. Генетический контроль стресса

Реакция на стрессор требует быстрой активации физиологических систем, обеспечивающих синтез и высвобождение ряда веществ, среди которых кортиколиберин (КРГ), глюкокортикоиды, катехоламины и др. Эти сигнальные молекулы реализуют свой эффект через соответствующие рецепторы. Изменение их количества и функции влияет на эндокринный и поведенческий компоненты реакции на действие стрессора.

Так, у мышей-нокаутов по гену *Grl1*, кодирующему глюкокортикоидный рецептор (ГР), в клетках мозга было обнаружено значительное повышение базальных концентраций кортикостерона, в сравнении с диким типом, вследствие нарушения глюкокортикоидной отрицательной обратной связи. Такие мыши демонстрировали сниженный уровень тревожности в ряде поведенческих тестов (Tronche et al., 1999).

Редукция числа ГР в отдельных структурах мозга, таких как кора и гиппокамп (но не ПВЯ), привело к росту базального уровня кортикостерона у трансгенных мышей и формированию депрессивно-подобного поведения по сравнению с мышами дикого типа (Boyle et al., 2005, 2006; Furay et al., 2008). Несмотря на сохранение ГР в гипоталамусе, особенно в ПВЯ, были обнаружены компенсаторные изменения в экспрессии отдельных нейропептидов (аргинин-вазопрессин (АВП)) или нейропептидных рецепторов (CRHr1) в гипоталамусе. Это, вероятно, может лежать в основе наблюдаемых различий в поведении (Boyle et al., 2006). После 5 и 15 мин иммобилизации уровень кортикостерона у трансгенных мышей возрастал и значительно превышал таковой у мышей дикого типа (Boyle et

al., 2006). Повышенная базальная и стресс-индуцированная концентрации кортикостерона, как и депрессивно-подобный фенотип, были характерны для самцов-нокаутов, но не для самок (Solomon et al., 2012).

Сверхэкспрессия кодирующих ГР генов в переднем мозге вызывала у мышей возрастание уровня тревожности и депрессивно-подобное поведение и, одновременно с этим, повышенную чувствительность к анидепрессантам и наркотическим веществам (кокаину). Такая «эмоциональная лабильность», вероятно, связана с усилением экспрессии КРГ, серотонина, транспортеров норадреналина и дофамина. При этом в сравнении с диким типом изменений концентрации кортикостерона не наблюдалось (Wei et al., 2004, 2012).

Снижение числа ГР в ПВЯ не влияло на тревожное или депрессивно-подобное поведение (Laruea et al., 2013; Solomon et al., 2015). Трансгенные мыши с 87%-ной редукцией числа ГР в ПВЯ демонстрировали задержку роста при рождении и ожирение во взрослом возрасте. У таких мышей уровень кортикостерона после острого иммобилизационного воздействия был повышен, но он был выше и в отсутствие стрессоров. Это может быть вызвано изменением отрицательной обратной связи, поскольку и экспрессия КРГ в ПВЯ, и уровень АКТГ в плазме при этом повышаются (Laruea et al., 2013).

Делеция ГР в норадренергических нейронах на периферии и в ЦНС приводила к уменьшению числа хромоаффинных клеток надпочечников, а также к изменениям поведения у самок-нокаутов, обнаруживавших тревожное и депрессивно-подобное поведение (Parlato et al., 2009; Chmielarz et al., 2013).

Создание различных тканеспецифичных мышей-нокаутов по генам, кодирующим ГР, также позволило обнаружить изменения в работе и строении органов сердечно-сосудистой, выделительной, дыхательной, репродуктивной и иммунных систем при стрессе (Whirledge, DeFranco, 2018).

К эффектам, противоположным изменению числа ГР, приводило изменение экспрессии минералокортикоидного рецептора (МР). Трансгенные мыши обоих полов с повышенным уровнем МР в переднем мозге (MRov) демонстрировали снижение уровня тревожности в сравнении с диким типом. У самок мышей MRov было выявлено также умеренное подавление кортикостеронового ответа на иммобилизацию. Повышенная экспрессия МР в переднем мозге изменяла экспрессию генов, кодирующих ГР и серотониновый рецептор 5-HT<sub>1a</sub>, связанных со стрессом и тревогой. Снижение уровня экспрессии ГР в гиппокампе и увеличение уровня серотонинового рецептора 5-HT<sub>1a</sub> сочеталось у трансгенных мышей со снижением тревожности (Rozeboom et al., 2007).

Недостаток КРГ у мышей-нокаутов *Crh* (-/-) приводил к отсутствию у самцов и заметному нарушению у самок синтеза АКТГ и кортикостерона в ответ на иммобилизационное воздействие в сравнении с диким типом (Muglia et al., 1995). Действие физических стрессоров, таких как гипогликемия и кровотечение, также вызывало ослабленный ответ (Jacobson et al., 2000). Мыши с null-мутацией гена рецептора к КРГ 1 типа (CRHr1) обнаружили низкий базальный и стресс-индуцированный (иммобилизацией) уровни кортикостерона и АКТГ. Они также были менее тревожными, чем мыши дикого типа (Smith et al., 1998; Nguyen et al., 2006.). Дефицит КРГ-

рецепторов 2 типа (CRHr2) приводил к усилению тревожности, но не вызывал изменений в уровнях кортикостерона по сравнению с диким типом (Bale et al., 2000).

В формировании стрессовой реакции участвуют различные нейромедиаторные системы (глутамат-, серотонин-, нейропептидергическая и др.), что определяет участие генетических элементов, включенных в соответствующие сигнальные каскады. У трансгенных мышей-нокаутов по гену глутаматного рецептора NMDA (в пирамидных нейронах поля CA3 гиппокампа) хронический режим иммобилизации не вызывал характерных изменений в строении дендритного дерева ни в поле CA3, ни в поле CA1, в то время как у мышей дикого типа такие изменения были обнаружены. Действие стрессора приводило к повышению уровня кортикостерона у мышей-мутантов, однако он не отличался от такового у дикого типа (Christian et al., 2011).

Нокин по гену триптофангидроксилазы-2 (фермента, участвующего в синтезе серотонина в мозге) у мышей вызывал 60-80%-ное снижение уровня серотонина в мозге. Такие мыши были более чувствительны к психосоциальному стрессу и менее восприимчивы к действию антидепрессантов (Sachs et al., 2015). Мыши-нокауты по генам серотониновых рецепторов 5-HT<sub>1a</sub> и 5-HT<sub>1b</sub> различались по поведению и по вегетативным реакциям на действие стрессора (Groenink et al., 2003). Так нокауты по 5-HT<sub>1a</sub> рецептору были более тревожными, но не отличались от дикого типа по частоте сердечных сокращений (ЧСС) и температуре тела ни до, ни после воздействия стрессового фактора (новизны). В то же время нокауты по 5-HT<sub>1b</sub> демонстрировали повышенную двигательную активность,

а также более низкий базальный уровень ЧСС и более высокую температуру тела, чем у мышей дикого типа. В ответ на новизну эти мыши обнаружили усиление вегетативных реакций.

У мышей-нокаутов по гену 5-HT<sub>2c</sub> рецептора хроническое действие стрессора (новизны) приводило к изменению в пищевом поведении: значительная гиперфагия наблюдалась у молодых мышей-мутантов по сравнению с диким типом, у старых мышей произошло снижение базальной гиперфагии. Последующее хроническое иммобилизационное воздействие приводило к нивелированию гиперфагии у молодых мышей-нокаутов, в то же время потребление пищи старыми мышами-нокаутами не отличалось от дикого типа. Иммобилизация вызвала повышение уровней АКТГ, кортикостерона и инсулина у старых трансгенных мышей относительно мышей дикого типа (Chou-Green et al., 2003).

Инактивация гена, кодирующего каннабиноидный рецептор CB<sub>1</sub>, приводила к укорачиванию дендритов нейронов 2-3 слоев прелимбической коры, и увеличению длины апикальных дендритов у нейронов миндалины с сопутствующим усилением тревоги в нестрессорных условиях. Интересно, что такие же изменения были обнаружены у мышей дикого типа, предварительно подвергавшихся хроническому иммобилизационному воздействию (Hill et al., 2011). Развитие стресса, вызванного новизной, приводило к большему повышению уровня АКТГ у мышей-нокаутов в сравнении с диким типом (Haller et al., 2004).

Сверэкспрессия соматостатинового рецептора 5 подтипа (SSTR5) в клетках аденогипофиза, секретирующих АКТГ, не

изменила базальные уровни АКТГ и кортикостерона у мышей. Однако в ответ на иммобилизацию и воспаление концентрация кортикостерона у трансгенных мышей была ниже, чем у мышей дикого типа. У этих мутантов было обнаружено повышение уровня тревоги и депрессивно-подобного поведения при действии стрессоров. Сверхэкспрессия SSTR5 приводила также к подавлению экспрессии рецептора к КРГ 1 типа (CRHR1) и его функции, таким образом оказывая влияние на работу ГГНС (Yamamoto et al., 2018).

Функционирование ГГНС зависит и от активности генов, кодирующих биологически активные вещества, участвующие в определении размеров мозга, например, фактора роста фибробластов 2 (FGF2) (Salmaso et al., 2016) и нейротрофического фактора мозга (BDNF) (Govindarajan et al., 2006). У нокаутов по гену *Fgf2* была снижена экспрессия ГР в гиппокампе и сопряженное с ним усиление экспрессии КРГ в нейронах ПВЯ, но не в миндалине, что согласуется с представлениями о тормозной роли гиппокампа в отношении ГГНС. Вместе с этим трансгенные мыши демонстрировали более высокий уровень тревожности. Базальная и стресс-индуцированная (иммобилизацией) концентрации кортикостерона у них были выше, чем у мышей дикого типа. Введение FGF2 таким мышам в зрелом возрасте восстановило нормальный уровень тревожности, а также усилило экспрессию ГР в гиппокампе и снизило концентрацию кортикостерона (Salmaso et al., 2016).

Повышенная экспрессия гена BDNF у мышей приводила к усилению генеза шипиков в базолатеральном ядре миндалины, что сопровождалось повышением уровня тревоги, который не

изменялся после иммобилизационного воздействия. Сходные эффекты развивались у мышей дикого типа в условиях действия хронического стрессора (Govindarajan et al., 2006). В то же время у трансгенных мышей было ослаблено депрессивно-подобное поведение и отсутствие повреждающего влияния стресса на клетки гиппокампа.

Ген *Vax* кодирует белок, действие которого заключается в ускорении процессов клеточной смерти и противоположно по знаку действия белку гена *Bcl-2* (см. раздел «Гены и мозг»). Белки, кодируемые этими генами, могут образовывать гетеродимеры, инактивируя тем самым способность *BCL-2* блокировать апоптоз (Reed, 1994). В мозге мышей-нокаут по гену *Vax* -/- обнаружено большее число нейронов. Мыши-мутанты были менее тревожными по сравнению с диким типом. Действие такого стрессора, как запах хищника, вызывало более выраженное избегание источника запаха по сравнению с мышами дикого типа (Luedke et al., 2013).

Сравнение интактных животных и животных, подвергшихся действию психосоциального стрессора, выявило гены в клетках гиппокампа, активность которых определяется стрессорной реакцией. При этом экспрессия четырех генов была снижена. Это были гены, кодирующие NGF (фактор роста нервов), M6a (мембранный гликопротеин 6a), CLK1 (CDC-лайк киназа-1) и GNAQ (G-протеин альфа q). Их активность влияет на процессы клеточной дифференцировки (Alfonso et al., 2004). Активность гена рецептора *Nr4a2*, экспрессирующегося в гранулярных клетках зубчатой извилины гиппокампа, также изменялась после иммобилизации: острое воздействие подавляло активность гена, хроническое воздействие

приводило к обратному эффекту (Imura et al., 2019). В случае хронического непредсказуемого стресса у крыс в стриатуме, гиппокампе и мозжечке, была обнаружена супрессия ряда генов, кодирующих молекулы транспортеров или ферментов в ГАМК-нейронах или астроцитах. В итоге это приводило к нарушению цикла глутамин-глутамат-ГАМК в данных структурах мозга и к формированию депрессивно-подобного поведения (Xu et al., 2020).

Подтверждение роли генотипа в формировании ответа организма на действие стрессоров, в т.ч. активации ГГНС и симпатoadреналовой системы, было получено благодаря проведению селекционных экспериментов.

Генетическая детерминированность стресс-реактивности была продемонстрирована в селекционном эксперименте по выведению мышей с разным уровнем стресс-реактивности. В качестве параметра для оценки выраженности данного признака был выбран индуцированный иммобилизацией уровень кортикостерона, отражающий уровень активации ГГНС. Из исходной популяции мышей линии CD-1 были получены мыши HR, IR и LR с высоким, средним и низким уровнями кортикостерона соответственно (Knapman et al., 2012). У мышей HR было выявлено нарушение когнитивных способностей: они хуже, чем две другие линии, справлялись с тестами на пространственное обучение и переделку навыка (reversal learning), что отражало снижение функции гиппокампа и ПФК. Фоновый уровень электрической активности гиппокампа, оцененный при помощи усиленной марганцем МРТ, был ниже у мышей HR. По объему гиппокампа животные трех линий не различались. Протеомный анализ

обнаружил различия между HR и LR в экспрессии ряда белков, участвующих в энергетическом обмене клеток, что вместе со снижением уровня N-ацетиласпартата в правом дорсальном гиппокампе и в ПФК мышей HR линии указывало на нарушение функции митохондрий. Интересно, что схожие с HR изменения были обнаружены у людей с шизофренией или депрессией, что подтверждает вовлечение митохондриальной дисфункции в развитие психических расстройств (Knapman et al., 2012). Редукция белков митохондриального комплекса, нарушение дыхательной функции и снижение концентрации АТФ в прилежащем ядре были также обнаружены у высоко тревожных крыс-самцов, склонных к подчинению во время поединка с низко тревожными крысами. Это демонстрирует важную роль энергетического обмена мозга в социальном поведении и связанных с ним тревожных расстройств (Hollis et al., 2015).

В серии экспериментов сравнивали стресс-реактивность трех часто используемых для изучения тревожности линий мышей (129 Sv/Ev (129S6), Swiss Webster (SW) и C57BL/6 (B6)). Оценка стресс-реактивности проводилась по показателям вегетативных стрессорных реакций, таких как температура тела, ЧСС, а также по уровню двигательной активности (van Bogaert et al., 2006). Животных подвергали действию стрессоров разной интенсивности: действие звука (низкоинтенсивный стрессор), хэндлинг (средняя интенсивность), новизна обстановки (высокоинтенсивный). Каждый стрессор вызывал повышение вегетативных показателей у мышей трех линий, при этом чем сильнее была интенсивность стрессора, тем более выраженным было

изменение вегетативных реакций. В случае действия низкоинтенсивного стрессора межлинейных различий в приросте температуры не было обнаружено, но изменение локомоции у мышей SW значительно превышало таковую у двух других линий, а уровень ЧСС было несколько менее увеличен у у мышей линии 129S6. Различий между линиями по повышению температуры и ЧСС не было и при воздействии стрессора средней интенсивности, однако уровень двигательной активности был значительно увеличен у мышей SW, и был ниже всех – у 129S6. Наиболее яркие межлинейные различия обнаружило действие высокоинтенсивного стрессора (новизны). Повышение температуры тела распределилось следующим образом: B6 > 129S6 > SW; по ЧСС: B6 > SW = 129S6; по уровню двигательной активности: B6 = SW > 129S6. Инъекция диазепама оказала анксиолитический эффект на мышей всех линий, однако наибольшую чувствительность к препарату проявили мыши 129S6, у которых эффект был наиболее ярко выражен. Таким образом, в ходе экспериментов были обнаружены межлинейные различия как в вегетативном ответе на действие стрессора, так и в фармакологической чувствительности. Необходимо отметить, что изменения в функции вегетативной нервной системы обнаруживаются у больных с депрессией или тревожными расстройствами (Tulen et al., 1996 цит. по van Bogaert et al., 2006).

Отличие в стресс-реактивности было обнаружено у крыс двух линий, селектированных по уровню тревожности в ПКЛ – высокотревожная (HAB) и низкотревожная (LAB) линии. Межлинейные различия поддерживались не только в ПКЛ, но и ряде других тестов (открытое поле, тест Порсолта, социальные

взаимодействия и др.). У крыс LAB был более высокий уровень исследовательской активности, чем у HAV, а также более высокий уровень межсамцовой агрессии (Veenema, Neumann, 2007).

Различий в базальной активности ГГНС (уровни АКТГ и кортикостерона, связывание ГР и МР в клетках гиппокампа, рецептора к КРГ 1 типа в ПВЯ) у крыс двух линий не было обнаружено. Единственным исключением была более низкая экспрессия КРГ в ПВЯ у LAB, чем у HAV. Предъявление различных стрессорных стимулов приводило к разным эндокринным ответам. После воздействия несоциального стрессора у крыс LAB были более низкие концентрации АКТГ и кортикостерона, чем у HAV. Предъявление социального стрессора, например, подсаживание в клетку к более крупному самцу-резиденту, вызвало у крыс LAB более сильный ответ ГГНС по сравнению с HAV. Подсаживание к меньшему по размеру самцу провоцировало также высокий уровень агрессии у крыс LAB. При социальном поражении у крыс LAB было более заметное повышение температуры тела, чем у HAV. Таким образом, социальное взаимодействие представляется более сильным стрессорным событием для крыс обеих линий, особенно для животных с низкой тревожностью. Реагируя на стрессор, они используют активные стратегии поведения. Сверхвозбуждение LAB в ответ на определенные стимулы может быть связано с более высоким базальным уровнем катехоламинов (Veenema, Neumann, 2007).

Вероятно, различия между этими линиями опосредованы повышенной у крыс HAV экспрессией гена аргинин-вазопрессина (АВП) в гипоталамусе. У крыс LAB была выявлена

сниженная экспрессия аргинин-вазопрессина в септуме во время действия социального стрессора (Veenema, Neumann, 2007). В то же время у крыс LAB усилена активность гена глиоксалазы-1 (Landgraf et al., 2007).

Разница в экспрессии ряда генов была обнаружена у линий мышей HAB-M и LAB-M, селективированных на разный уровень тревожности. Одним из таких генов оказался, как и у крыс, ген глиоксилазы-1 (Landgraf et al., 2007). Чуть позже были обнаружены межлинейные различия в уровне экспрессии еще одного гена (*Tmem132d*), активность которого была выше в передней поясной коре мышей HAB (Naik et al., 2018).

Схожие результаты были получены в ходе отбора по длительности латентного периода нападения на неагрессивного самца-оппонента. Исходная популяция состояла из диких особей *Mus musculus domesticus*. Полученные линии мышей – с короткой латентностью нападения (SAL) и длительной латентностью нападения (LAL) – демонстрировали фенотипы, совпадающие с таковыми у линий крыс LAB и HAB. Базальный уровень АКТГ у мышей SAL был ниже, чем у LAL, что предполагает межлинейные различия в чувствительности клеток коры надпочечников к АКТГ. Различий в уровнях экспрессии КРГ в ПВЯ, ГР и МР в гиппокампе не было обнаружено. Действие несоциального стрессора у мышей SAL, как и у крыс LAB, вызывало пониженную реакцию оси ГГН в сравнении с LAL. Однако и в случае социального стрессора реакция ГГНС мышей SAL была ослаблена. Генерализованное снижение возбуждения у мышей SAL может быть непосредственно связано с высоким уровнем агрессии, что описано, например, у больных с расстройством

личности (Haller, Kruk, 2006 цит. по Veenema, Neumann, 2007). В обеих линиях грызунов (SAL и LAB) проявление агрессии связано с высокой активацией нейронов в центральной миндалине и со сниженной активацией латерального отдела септума.

Ряд селекционных экспериментов обнаруживает связь между весом мозга и развитием стрессовых реакций.

Различия в реагировании на стрессор были обнаружены у мышей, селектированных по уровню магния в эритроцитах. В ходе селекционного эксперимента были получены две линии с высоким (MGN) и низким (MGL) содержанием магния. Расхождение в значениях магния было обнаружено также в плазме крови, почках и костях черепа. В ответ на действие социального стрессора мыши MGL демонстрировали более агрессивное поведение и гиперактивность в сравнении с мышами второй линии. У мышей с низкой концентрацией магния была выше ректальная температура, а также более высокий уровень норадреналина. Наряду с разницей в поведенческом ответе на стрессор, у мышей этих линий были обнаружены различия в весе мозга: он был больше у мышей MGL. Авторы не исключают феномена случайной ассоциации признаков веса мозга и концентраций магния, но одновременно с этим приводят данные, указывающие на существование причинно-следственной связи между двумя признаками (Henrotte et al., 1997).

Серия экспериментов по отбору на большой (БМ) и малый (ММ) вес мозга выявила различия в уровне тревожности, депрессивно-подобного поведения и стресс-реактивности между мышами выведенных линий. Так, мыши ММ были более

тревожны, демонстрировали депрессивно-подобный фенотип, а также хуже справлялись с когнитивными тестами и обучением. Напротив, мыши БМ проявляли более высокий уровень исследовательской активности и более низкий уровень тревоги, были более успешны в прохождении когнитивных тестов (Перепелкина и др., 2013).

Таким образом, результаты экспериментов по созданию животных с измененной экспрессией генов, совместно с данными селекции, свидетельствуют о том, что способность организма реагировать на стрессор и адаптироваться к изменениям генетически обусловлена. В завершении необходимо упомянуть, что наряду с генетическими элементами, свое влияние на развитие стрессовой реакции оказывают и эпигенетические механизмы (Lee, Sawa, 2014; Godoy et al., 2018).

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

**Экспериментальные животные.** В работе были использованы самцы мышей линии БМ (n=31) и линии ММ (n=23) в возрасте 6 мес. Это были мыши, селектированные на большой и малый относительный вес мозга (Перепелкина и др., 2013). Как упоминалось выше, в третьем селекционном эксперименте, который проводился в лаборатории, селекцию на вес мозга прекратили с 22 поколения и мышей разводили аутбредно внутри каждой линии. В эксперименте были использованы мыши F39 (если считать от начала селекционного эксперимента), которые не подвергались селекции на вес мозга в течение 17 поколений. Животные каждой линии были разделены на 2 группы в зависимости от воздействия – экспериментальную и контрольную.

Животные содержались в стандартных пластиковых клетках размером 33x22x8 см, по 3-4 мыши в каждой, в условиях естественного освещения и свободного доступа к корму и воде (за исключением периодов пищевой депривации, предшествующей проведению теста на гипонеофагию).

Эксперименты проводились в соответствии с международными правилами по работе с лабораторными животными (Директива 2010/63 ЕС от 22 сентября 2010 г.).

**Иммобилизация.** Экспериментальные группы линий БМ (n=16) и ММ (n=12) подвергали действию иммобилизации (в течение 2 ч), контрольные группы БМ (n=15) и ММ (n=11) в это время оставались в домашних клетках. Иммобилизация заключалась в помещении животного в стандартные пластиковые пробирки с конусовидным концом (диаметр – 2.8

см, длина - 12 см) и объемом 50 мл. В пробирках были проделаны многочисленные 1 мм отверстия для поступления воздуха и вентиляции. По истечении 2 ч каждую мышь помещали в отдельную пластиковую клетку на 15 минут.

**Тестирование поведения.** *Тест на гипонеофагию.* Предварительно, за 18-19 часов до проведения теста животные были лишены еды с сохранением доступа к воде. Установка для данного теста представляла собой камеру в форме цилиндра (диаметр - 40 см, высота стенок - 35 см). В центр камеры помещали небольшую пластиковую чашечку, заполненную новой для мышей пищей (сыр, нарезанный некрупными кубиками). Мышь помещали в установку на 5 мин. и регистрировали число подходов к новой пище, вес съеденного сыра и длительность времени, занятого едой.

*Тест на акустическую реакцию вздрагивания (стартл-реакцию).* Для провокации стартл-реакции подавали звуковой щелчок, со следующими характеристиками: частота - 9 кГц, громкость - 108 дБ, время нарастания - 0,2 с. Предъявление щелчка проводили 5 раз с нерегулярными интервалами между предъявлениями (не менее 15 секунд). Подачу щелчка производили в моменты, когда мышь стояла на опоре всеми лапами. Оценка интенсивности реакции проводилась в соответствии с условной шкалой, где 0 - нет реакции, 1 - замирание, 2 - вздрагивание, 3 - прыжок.

*Тест «неизбегаемая скользкая воронка».* Этот тест рассматривают как более «щадящий» аналог теста Порсолта (Porsolt et al., 1997) для оценки склонности животного к депрессии по его поведению при помещении в воду (Salimov, 1999). Установка для данного теста представляла собой

большую стеклянную воронку. Высота воронки – 18 см, диаметр верхней части – 40 см. Горловина воронки имела высоту 6 см, ее диаметр – 10 см. Расходящаяся часть воронки имела наклон 40°. Нижняя часть (горловина воронки) заполнялась водой комнатной температуры на такую высоту, чтобы у мыши, стоящей в вертикальной позе, задние лапы были погружены в воду. Воду заменяли после каждой пробы. Регистрировали поведение мыши, которое проявлялось в виде реакций («стратегий») 3 типов. Это были: 1) пассивная стратегия, когда животное оставалось в воде (в горловине), она обозначалась как «неподвижность» (или иммобильность), и две активные стратегии – 2) «пассивное избавление» (распластанная поза с лапами «враспор» над поверхностью воды) и 3) «активное избегание» (попытка животного выпрыгнуть из воронки). Для каждой стратегии оценивали число эпизодов, а также общую продолжительность за 3 мин теста.

*Тест на поиск входа в укрытие.* Для проведения данного теста была использована камера размером 74 x 30 x 28 см, состоящая из двух отсеков. Один из них – светлый – освещался лампой накаливания мощностью 60 Вт, второй – темный – служил укрытием. Отсеки были разделены перегородкой, у основания которой находился углубленный в пол камеры лаз (ширина – 4,5 см, длина – 11,5 см, глубина – 1,5 см ниже поверхности), через который мышь могла проникнуть из светлого отсека в темный.

Тест состоял из 4 проб, которые различались по способу маскировки лаза: 1-я проба проводилась с открытым лазом, 2-я проба – лаз был присыпан стружкой вровень с полом, в третьей и четвертой пробах лаз был заблокирован легкой пластиковой

пробкой, которую мышь могла извлечь зубами или отодвинуть. Оценивали успешность выполнения теста в каждой пробе теста и латентный период (ЛП) перехода в темный отсек, а также регистрировали число подходов к лазу, стоек и эпизодов груминга до перехода в темный отсек. Тест считали успешно пройденным, если мышь переходила в темный отсек в пределах 180 сек для 1-й и 2-й проб и 240 сек – для 3-й и 4-й проб. Следует отметить, что 1 проба этого теста – это аналог теста «светло-темной камеры», который используют для оценки быстроты реакции избегания яркого освещения и уровня тревожности, вызванного помещением в новую обстановку (Kulesskaya, Voikar, 2014).

**Статистическая обработка данных.** Статистическую оценку влияния факторов «генотип», «воздействие» и их взаимодействия проводили с использованием двухфакторного ANOVA с последующим post hoc LSD анализом (по Фишеру) различий между исследуемыми группами при использовании пакета программ STATISTICA 6. Достоверность различий альтернативных долей оценивали по методу  $\varphi$  (по Фишеру).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

### 3.1. Тест на гипонеофагию

Как упоминалось в разделе Методы, в этом тесте оценивали вес съеденного сыра (новой пищи), время, затраченное на еду, а также число подходов к кормушке. Данные 2-факторного ANOVA (факторы «генотип» и «воздействие» (иммобилизация), табл. 1) продемонстрировали достоверность влияния фактора «воздействие». 2-часовая иммобилизация повлияла на такие показатели, как вес съеденной новой пищи и число подходов к ней. Влияние фактора «генотип» и взаимодействие факторов «генотип» x «воздействие» для всех трех показателей были на «границе достоверности» ( $p=0.063$ ,  $p=0.058$  и  $p=0.59$ , соответственно, табл. 1). Возможно, что больший размер выборки позволил бы обнаружить достоверность влияния взаимодействия факторов, которое может отражать разный эффект воздействия в зависимости от генотипа животного.

Таблица 1

Данные 2-факторного ANOVA («генотип» и «воздействие») для 3 показателей поведения в тесте на гипонеофагию

Фактор	Вес съеденного сыра, мг	Число подходов к сыру	Время (с), затраченное на еду
Генотип	$F_{1-3}=3,37$ $p=0,072$	$F_{1-3}=0,05$ $p=0,821$	$F_{1-3}=0,34$ $p=0,564$
Воздействие	$F_{1-3}=4,93$ $p=0,031$	$F_{1-3}=8,16$ $p=0,006$	$F_{1-3}=0,83$ $p=0,366$
Генотип x воздействие	$F_{1-3}=3,64$ $p=0,062$	$F_{1-3}=3,78$ $p=0,058$	$F_{1-3}=3,75$ $p=0,059$

Post hoc LSD анализ (по Фишеру) выявил значительные различия между мышами контрольной и экспериментальной групп линии ММ (рис. 1 и 2). Вес съеденного сыра, как и количество подходов к нему были достоверно выше у животных линии ММ после иммобилизации. Стрессированные мыши ММ проводили больше времени за процессом поедания сыра ( $52,1 \pm 10,3$  с против  $24,8 \pm 10,3$  с для БМ), однако эти различия недостоверны ( $p=0,07$ ). Между 2 группами мышей БМ достоверных различий в числе подходов к пище (рис.2), во времени, затраченном на процесс еды ( $28,0 \pm 8,6$  с и  $37,8 \pm 8,9$  с,  $p=0,43$  для экспериментальной и контрольной групп соответственно), и весе съеденного сыра (рис.1) не было обнаружено.

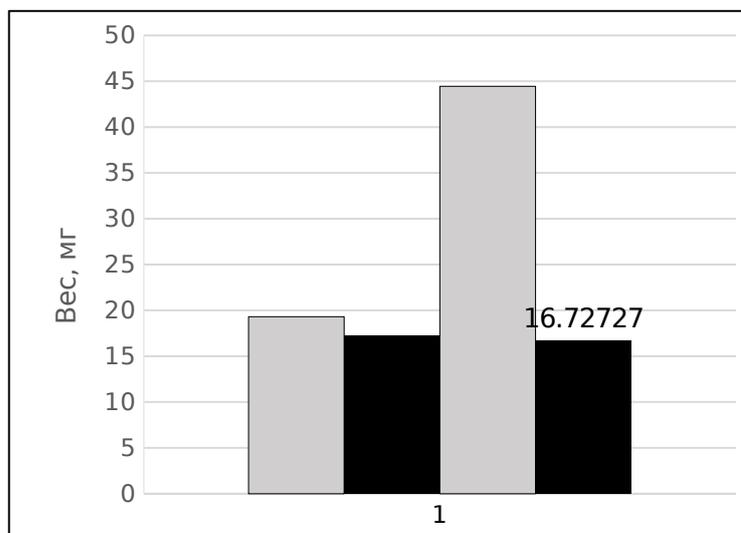


Рис. 1. Средний вес ( $\pm$  ош. средн, ось ординат, мг) пищи, съеденной мышами двух линий в тесте на гипонеофагию. Черные столбики – контрольные группы, серые столбики – группы после иммобилизации. \*\* - дост. отл. от группы линии ММ после иммобилизации при  $p \leq 0,01$  (post hoc LSD анализ по Фишеру).

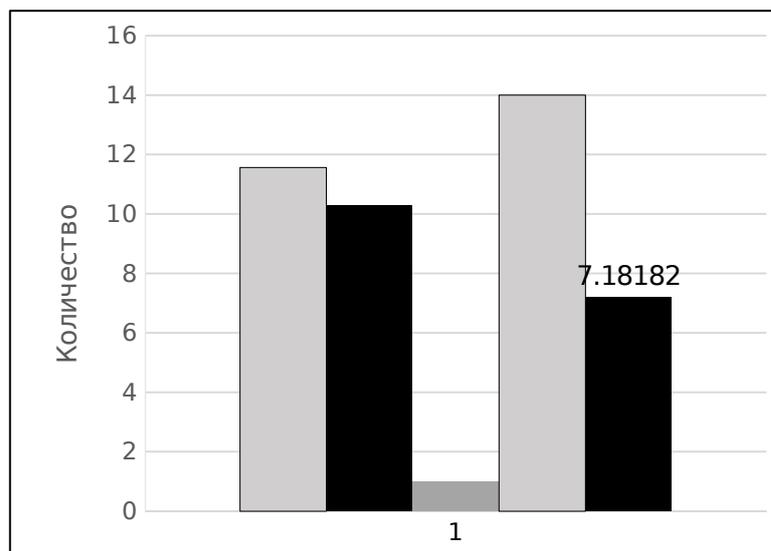


Рис. 2. Среднее число ( $\pm$  ош. средн, ось ординат) подходов животных к новой пище. Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - группы после иммобилизации. \*\* - дост. отл. от группы линии ММ после иммобилизации при  $p \leq 0,01$  (post hoc LSD анализ по Фишеру).

В то же время мыши ММ после иммобилизации поедали пищу достоверно активнее: вес сыра (новой пищи), съеденного в ходе 5 мин теста, у мышей этой группы был выше, чем у группы мышей БМ, подвергшихся иммобилизационному воздействию. Межлинейные различия по числу подходов между контрольными группами БМ и ММ и между экспериментальными группами были обнаружены, но оказались недостоверными ( $p=0,13$  и  $p=0,23$  соответственно). После иммобилизации мыши БМ тратили меньше времени на еду ( $28 \pm 8,6$  с), чем мыши ММ ( $52,1 \pm 10,3$  с), в то время как для контрольных групп был обнаружен обратный эффект ( $37,8 \pm 8,9$  с для БМ и  $24,8 \pm 10,3$  с для ММ). Однако эти различия не были достоверны ( $p=0,08$  и  $p=0,35$  соответственно). Противоположный знак различий между БМ и ММ по данным показателям и определил почти достоверную величину показателя «взаимодействие факторов» по 2-факторному ANOVA. Иными словами, иммобилизационный стресс четко активировал поведение мышей линии ММ (но не БМ). По всей

видимости, состояние стресса вызвало снижение боязни новой пищи в тесте на гипонемофагию. Однако можно предположить, что у мышей ММ в ответ на воздействие стрессора (иммобилизации) стал выше уровень пищевой мотивации (т.е. голод).

### **3.2. Тест на стартл-реакцию**

В ходе пяти предъявлений щелчка практически все мыши исследуемых групп либо не обнаруживали реакции на этот стимул, либо обнаруживали его только в виде «вздрагивания». Реакция в виде прыжка в 4 и 5 пробах была отмечена только у одной мыши БМ из группы после иммобилизации.

2-факторный ANOVA («генотип» и «воздействие») выявил достоверное влияние генотипа на условный балл стартл-реакции у мышей двух линий. Более интенсивную реакцию демонстрировали мыши линии БМ, которые чаще вздрагивали в ответ на предъявление стимула, в то время как мыши линии ММ в большинстве проб не реагировали на него (рис. 3). Стресс, вызванный иммобилизацией, не оказал значительного эффекта на стартл-реакцию, несмотря на четкие межлинейные различия.

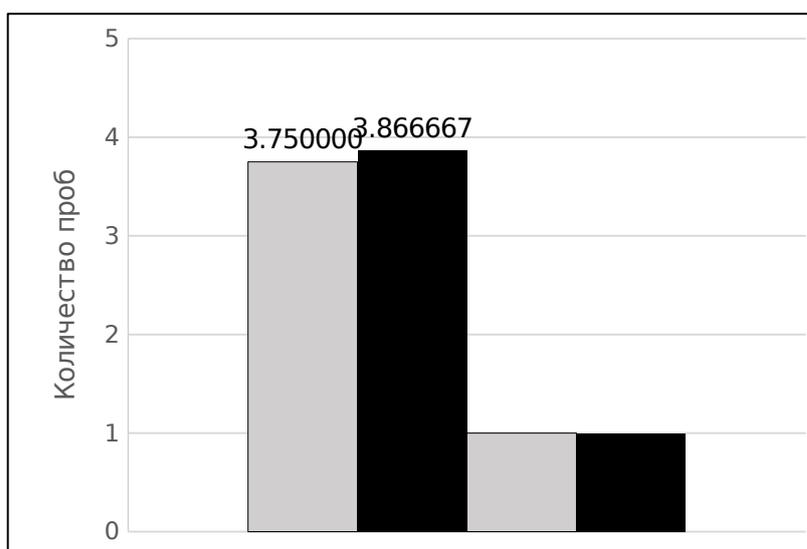


Рис. 3. Вздогивание у мышей ММ и БМ. По оси ординат - число проб ( $\pm$  ош. средн), в которых обнаружилось вздогивание. Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - группы после иммобилизации. \*\*\* - дост. отл. от группы ММ после иммобилизации при  $p \leq 0,001$ . ### - дост. отл. от контрольной группы ММ при  $p \leq 0,001$  (post hoc LSD анализ по Фишеру).

### 3.3. Тест «неизбегаемая скользкая воронка»

Тест «неизбегаемая скользкая воронка» позволяет оценить предрасположенность животного к депрессивно-подобному поведению. В этом тесте мышь попадает в ситуацию, из которой она стремится выбраться. Как упоминалось в разделе Методы, поведение мыши, помещенной в воду в горловину воронки, может носить пассивный характер (сохранение неподвижности) или активный характер («стратегии» пассивного избавления и активного избегания).

Согласно данным 2-факторного ANOVA, влияние фактора «генотип» было достоверным для длительности каждой из 3 реакций, а также для числа эпизодов активных стратегий. В то же время влияние фактора «воздействие» было достоверным для длительности реакций избавления и избегания и для числа эпизодов использования животными данных стратегий. Взаимодействие двух факторов было достоверным для общего

времени, занятого каждой из стратегий, а также для числа эпизодов неподвижности (табл. 2).

Таблица 2

Данные 2-факторного ANOVA («генотип» и «воздействие») для теста «неизбегаемая скользкая воронка»

Фактор	Длительность иммобилизации	Длительность избавления	Длительность избегания	Число актов иммоб.	Число актов избав.	Число актов избег.
Генотип	$F_{1-3}=7,77$ $p=0,007$	$F_{1-3}=20,37$ $p=3,9 \cdot 10^{-5}$	$F_{1-3}=17,56$ $p=1,13 \cdot 10^{-4}$	$F_{1-3}=3,03$ $p=0,088$	$F_{1-3}=5,67$ $p=0,021$	$F_{1-3}=14,44$ $p=3,9 \cdot 10^{-4}$
Воздействие	$F_{1-3}=1,81$ $p=0,184$	$F_{1-3}=7,09$ $p=0,010$	$F_{1-3}=9,98$ $p=0,003$	$F_{1-3}=1,56$ $p=0,218$	$F_{1-3}=5,28$ $p=0,026$	$F_{1-3}=6,04$ $p=0,017$
Генотип х воздействие	$F_{1-3}=9,50$ $p=0,003$	$F_{1-3}=4,16$ $p=0,047$	$F_{1-3}=5,13$ $p=0,028$	$F_{1-3}=5,08$ $p=0,029$	$F_{1-3}=2,60$ $p=0,113$	$F_{1-3}=2,88$ $p=0,096$

Post hoc LSD анализ выявил различия между группами мышей БМ и ММ в длительности реакций 3 типов в данном тесте, что представлено на рис. 4.

Межлинейные различия между животными контрольных групп линий БМ и ММ были выявлены в длительности состояния неподвижности и реакций избавления (рис. 4А и 4В). Контрольные мыши БМ дольше пассивно сидели в воде, чем мыши ММ, и гораздо меньше времени проводили в «распластанной позе», проявляя реакцию избавления. У мышей БМ после иммобилизации время использования пассивной стратегии (неподвижности) было недостоверно

короче, чем в контроле, что может быть свидетельством несколько более активного поведения мышей БМ экспериментальной группы. В то же время у ММ после иммобилизации обнаружилось достоверно большая, чем в контроле, длительность этой реакции (рис. 4). Таким образом, по этому показателю были выявлены не только межлинейные различия в контроле, но и его разнонаправленные изменения у мышей двух линий в ответ на воздействие стрессора.

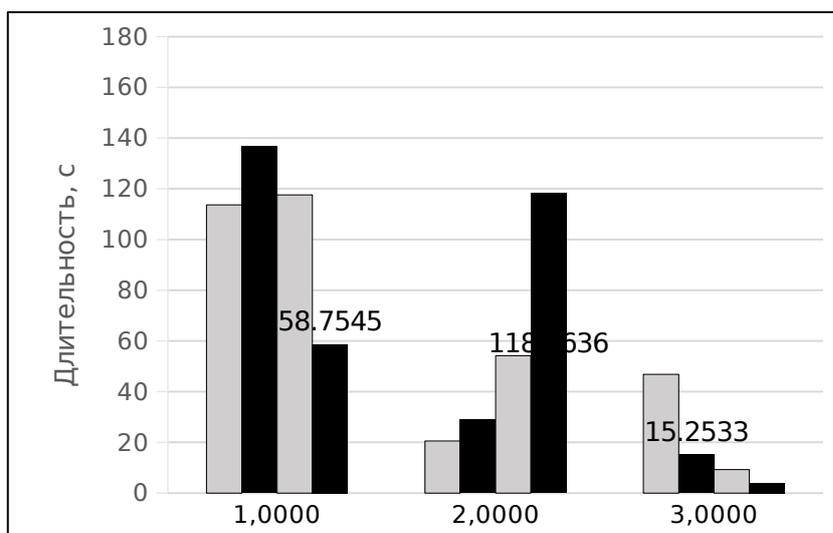


Рис.4. Среднее время ( $\pm$  ош.средней, ось ординат, с), занятое каждой из 3 «стратегий» в тесте «неизбегаемой скользкой воронки»: А - неподвижность, В - реакция пассивного избавления, С - реакция активного избегания. Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - после иммобилизации. \*\* - дост. отл. от контрольной группы ММ при  $p \leq 0,01$ . \*\*\* - дост. отл. от контрольной группы ММ при  $p \leq 0,001$ . ## - дост. отл. от группы БМ после иммобилизации при  $p \leq 0,01$ . ### - дост. отл. от группы БМ после иммобилизации при  $p \leq 0,001$  (post hoc LSD анализ по Фишеру).

Экспериментальные группы мышей двух линий показали достоверное разное время использования стратегии избегания (рис. 4С). Иммобилизация животных привела к тому, что мыши линии БМ потратили больше времени, чем ММ такой же группы, совершая прыжки в попытке выбраться из воронки с водой. Более того, группы БМ достоверно различались только по длительности стратегии избегания со значительно большим

этим показателем у животных, подвергшихся иммобилизационному воздействию. Одновременно с этим в ответ на действие стрессора мыши БМ демонстрировали меньшую продолжительность другой активной стратегии – избавления (различия недостоверны). Обратный эффект обнаружен у мышей линии ММ, экспериментальная группа которой проводила достоверно меньше времени, чем контроль, в распластанной над водой позе. Эти различия, по всей видимости, и определили достоверность показателя «взаимодействие факторов» по 2-факторному ANOVA.

На интегральной схеме (рис. 5) можно видеть, что соотношение времени, занятое стратегиями трех типов, сильнее различается между контрольными мышами двух линий, чем у животных после иммобилизации, воздействие которой «выравнивает» поведение мышей двух линий. «Интегральная схема» показывает сложный характер различий между 4 группами, биологический смысл которых, по-видимому, можно оценить в сопоставлении с данными по другим показателям этого теста, а также по результатам других тестов.

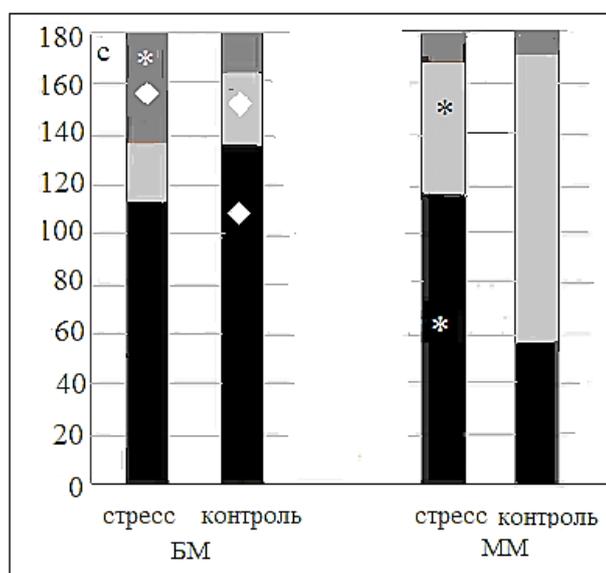


Рис. 5. Диаграмма, показывающая соотношение среднего времени, занятого реакциями 3 типов у мышей четырех групп (суммарно 180 с). Черная часть столбика - время, занятое неподвижностью, светло-серая - время реакции избавления, темно-серая - время реакции активного избегания. \* - достоверно отличается от показателя контрольной группы той же линии,  $p < 0.05$ ,  $\diamond$  - достоверно отличается от показателя соответствующей группы ММ.

На схеме (рис. 5) четко видно, что мыши ММ после иммобилизации дольше пребывали в состоянии неподвижности, тогда как контрольные мыши ММ дольше находились с «распластанной» позе (реакция избавления). Таким образом, у мышей ММ развитие стресса способствовало усилению пассивности в данном тесте (когда животное было помещено в «аверсивную» обстановку). Напомним, что в ситуации теста на гипонеофагию (где ситуация была хотя и новой, но более «комфортной», см. выше) мыши ММ после стресса были достоверно более активными.

Post hoc LSD анализ данных по другому показателю поведения мышей в этом тесте - по числу эпизодов каждой из стратегий - представлен на рис. 6.

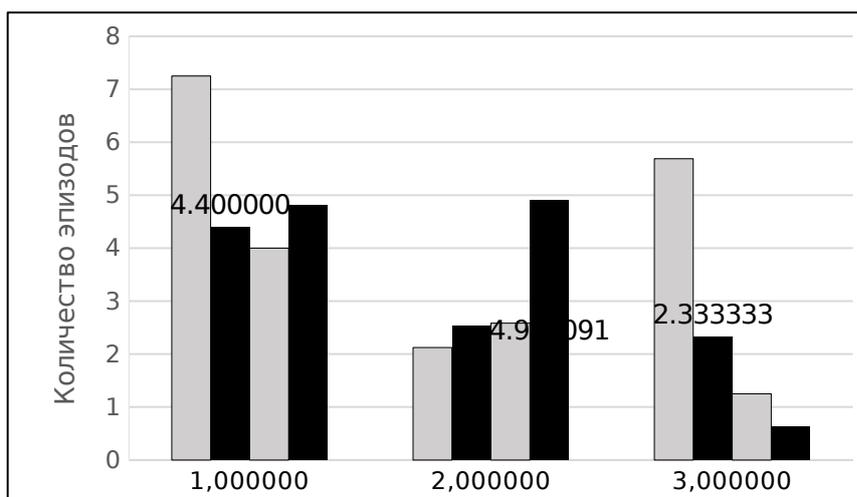


Рис. 6. Среднее число ( $\pm$ ош.средн) эпизодов неподвижности (А), избавления (В) и избегания (С). Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - после иммобилизации. \*,\*\* -дост. отл. от контрольной группы ММ при  $p \leq 0.05$  и  $p \leq 0,01$ , соответственно. ##, ### - дост. отл. от

группы БМ после иммобилизации при  $p \leq 0,01$  и  $p \leq 0,001$ , соответственно (post hoc LSD анализ по Фишеру).

Межлинейные различия между мышами БМ и ММ по числу эпизодов неподвижности у контрольных групп отсутствовали. В стресс-группах их было достоверно ( $p < 0,01$ ) больше у БМ как по сравнению с ММ, так и по сравнению со своей контрольной группой. Таким образом, мыши БМ после иммобилизации чаще меняли одну из активных стратегий на стратегию «неподвижность» (рис. 6А). Число эпизодов проявления реакции избавления (распластанная поза) у контрольных групп обнаружило межлинейные различия с достоверно большим числом таких эпизодов у мышей ММ. Группы БМ и ММ после иммобилизации по этому признаку не различались. Иными словами, у мышей ММ после иммобилизации было достоверно меньше эпизодов активной реакции избавления (рис. 6В). Число эпизодов реакции избегания (активные прыжки) обнаружило достоверные межлинейные различия: как у контрольной группы БМ, так и у БМ после иммобилизации их было больше, чем у соответствующих групп ММ. Возможно, что в данном случае эпизоды неподвижности можно рассматривать как своеобразные «паузы» между проявлениями активной стратегии избавления, поскольку прыжки, по-видимому, представляют собой интенсивную физическую активность и предполагают большое мышечное напряжение, и мышь сменяет это состояние «отдыхом» в горловине воронки (рис. 6).

### **3.4. Тест на поиск входа в укрытие**

Успешность решения данного теста оценивали по времени перехода (латентный период, ЛП) мыши в темный отсек (в

соответствии с выбранными критериями, см. Методы). Второй показатель успешности решения теста группой животных – доля особей, решивших тест.

*Анализ латентного периода отыскания лаза.* 2-факторный ANOVA выявил достоверность влияния фактора «генотип» на ЛП перехода мыши в темноту только в первой пробе ( $p=0.05$ ), которая по своей структуре является аналогом теста светло-темной камеры (Kuleskaya, Voikar 2014). Post hoc LSD анализ (по Фишеру) показал, что в первой пробе, когда вход в темную часть установки был открыт, у контрольных мышей ММ решение было достоверно более медленным, чем у контрольной группы БМ. Быстрота решения теста у мышей БМ обеих групп была почти одинаковой ( $42.0 \pm 14.11$  с для экспериментальной группы и  $49.46 \pm 14.6$  с для контроля) (рис. 7). В то же время у мышей ММ эти величины были  $55.8 \pm 17.0$  с и  $97.0 \pm 17.0$  с.

В целом все мыши БМ быстрее убегали в темноту, демонстрируя более быстрое избегание некомфортного яркого света. Достоверных различий в средней быстроте решения теста при маскировке лаза стружкой не выявлено – практически все животные быстро решали эту пробу с несколько (недостоверно) более медленными результатами у ММ. Средний ЛП контрольных мышей ММ в 3-й и 4-й пробах (первое и второе предъявление лаза, замаскированного пробкой) был больше (недостоверно), чем у контрольных мышей БМ (рис. 7).

Следует отметить, что у мышей БМ после иммобилизации средний ЛП в 3-й и 4-й пробах были длиннее, чем в контроле ( $82.7 \pm 20.3$  против  $123.6 \pm 21.0$  и  $68.2 \pm 22.8$  против  $131.0 \pm 22.1$ ),

тогда как у мышей ММ соотношение (для 3-й пробы) было обратным. В то же время мыши из группы ММ после иммобилизации быстрее переходили в темноту, чем мыши из контрольной группы (недостаточно). Средний ЛП опытной группы ММ был почти таким же, как у контрольных мышей линии БМ (рис. 7). Отметим, что более короткие ЛП были в контроле у БМ (и более длинные после иммобилизации), тогда как у ММ более длинные ЛП были в контроле в сравнении с несколько более короткими после иммобилизации.

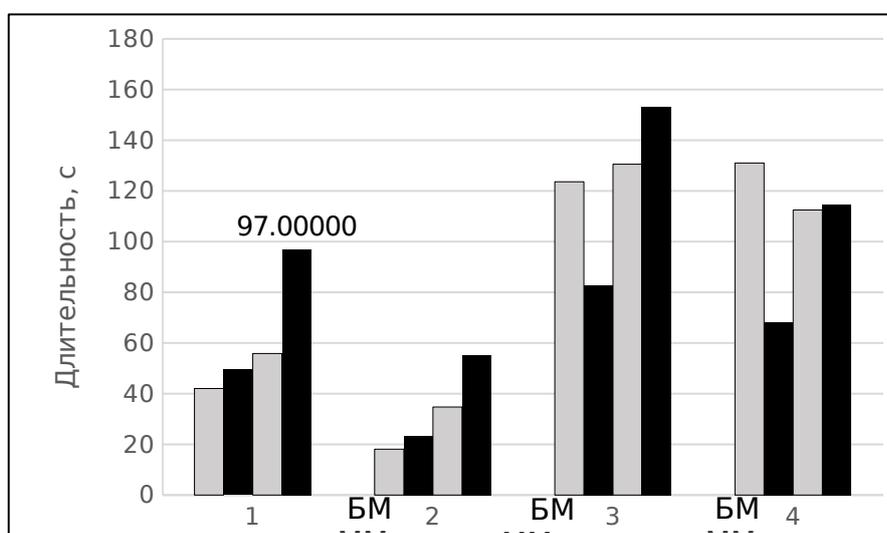


Рис. 7. Средние латентные периоды ( $\pm$  ош.средн.) решения четырех проб теста на поиск входа в укрытие. Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - после иммобилизации. \* - достоверные отличия от контрольной группы ММ при  $p \leq 0,05$  (post hoc LSD тест по Фишеру).

*Анализ успешности решения последовательных проб теста на поиск входа в укрытие.* 2-факторный ANOVA выявил достоверность влияния фактора «генотип» ( $p=0,02$ ) и фактора «воздействие» ( $p=0,04$ ) на успешность решения в первой пробе. Согласно полученным данным, в первой (и в третьей) пробах теста были выявлены четкие межлинейные различия - доля мышей контрольной группы линии ММ, решивших первую пробу, была достоверно меньше, чем у контрольных мышей БМ (рис. 8). Аналогичные различия между данными группами

наблюдались во второй и четвертой пробах, но они не были достоверными.

Животные из группы ММ после иммобилизации успешнее, чем контрольные, справлялись с решением задачи в 1-й пробе (лаз открыт). Такие же, но недостоверные различия у ММ были и в 3-й и 4-й пробах (с лазом, замаскированным пробкой). Напротив, воздействие стрессора на мышей БМ привело к снижению успешности решения теста в двух пробах (с пробкой) в сравнении с контролем (недостоверно) (рис. 8). Таким образом, различия в успешности решения этих проб между стрессированными и интактными мышами двух линий имели противоположный знак. Эти наблюдения согласуются с разным эффектом стресса на поведение мышей в тесте неизбежной скользкой воронки.

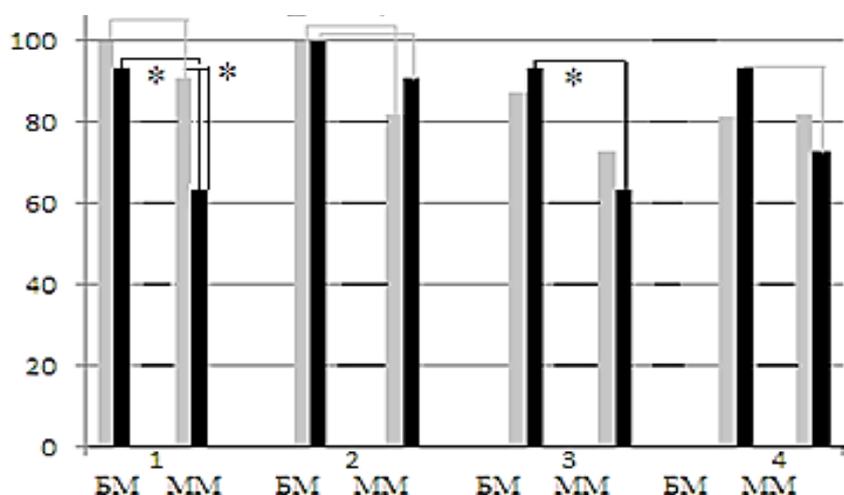


Рис. 8. Доли (в %) мышей 4 групп, успешно решивших последовательные пробы теста. Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - после иммобилизации. \* - достоверные отличия от контрольной группы ММ при  $p \leq 0,05$  (оценка достоверности различия альтернативных долей, метод  $\phi$ , по Фишеру). Серыми линиями отмечены различия, обнаружившие «тенденцию» к достоверности.

*Общие показатели поведения мышей в тесте на поиск входа в укрытие.* Параметры, позволяющие оценить исследовательское поведение животных (число подходов к лазу

и число стоек), а также число эпизодов груминга (что может охарактеризовать уровень тревожности животного) также были проанализированы. Данные 2-факторного ANOVA этих показателей представлены в таблице 3.

Post hoc LSD анализ показал, что животные БМ после иммобилизации достоверно чаще подходили к лазу в первой пробе в сравнении с соответствующей группой линии ММ. При этом в обеих группах ММ подходов было меньше, чем у БМ (рис. 9). Отметим, что средний ЛП первого подхода мышей ММ контрольной группы был значительно больше, чем ЛП опытной группы ММ и ЛП БМ-контроля. Это может отражать невысокий уровень их исследовательской активности. Межлинейные различия по числу подходов к лазу в 3-й пробе, когда лаз был заблокирован пробкой, были недостоверными (рис. 9), хотя различия между опытными и контрольными группами БМ и ММ были противоположными по знаку - больше подходов после иммобилизации у БМ и меньше - у ММ. В 4-й пробе различия практически отсутствовали (рис. 9). Таким образом, иммобилизация приводила к снижению уровня исследовательской активности в форме подходов к лазу в «когнитивной» пробе у мышей ММ мышей. В 4-й пробе у мышей всех групп «интерес» к лазу оказался сниженным, возможно из-за привыкания к освещенной части камеры, в которой не было дополнительных источников тревоги.

Таблица 3

Данные 2-факторного ANOVA (факторы «генотип» и «воздействие») для числа подходов к лазу, числа стоек и эпизодов груминга у мышей 4 групп в тесте на поиск входа в укрытие

Показате	№	Генотип	Воздействие	Генотип x
----------	---	---------	-------------	-----------

ль	пробы			воздействие
Подходы	1	$F_{1-3}=8,79$ $p=0,005$	$F_{1-3}=5,65$ $p=0,021$	$F_{1-3}=0,01$ $p=0,937$
	2	$F_{1-3}=3,86$ $p=0,056$	$F_{1-3}=0,61$ $p=0,436$	$F_{1-3}=0,01$ $p=0,940$
	3	$F_{1-3}=3*10^{-4}$ $p=0,986$	$F_{1-3}=1,14$ $p=0,291$	$F_{1-3}=2,23$ $p=0,142$
	4	$F_{1-3}=0,68$ $p=0,412$	$F_{1-3}=0,01$ $p=0,940$	$F_{1-3}=0,61$ $p=0,440$
Стойки	1	$F_{1-3}=10,53$ $p=0,002$	$F_{1-3}=2,87$ $p=0,096$	$F_{1-3}=4,07$ $p=0,049$
	2	$F_{1-3}=4,63$ $p=0,036$	$F_{1-3}=0,13$ $p=0,718$	$F_{1-3}=0,13$ $p=0,718$
	3	$F_{1-3}=4,83$ $p=0,033$	$F_{1-3}=4,50$ $p=0,039$	$F_{1-3}=0,67$ $p=0,416$
	4	$F_{1-3}=5,85$ $p=0,019$	$F_{1-3}=1,37$ $p=0,248$	$F_{1-3}=0,09$ $p=0,764$
Груминг	1	$F_{1-3}=5,22$ $p=0,026$	$F_{1-3}=6,69$ $p=0,013$	$F_{1-3}=4,86$ $p=0,032$
	2	$F_{1-3}=0,44$ $p=0,508$	$F_{1-3}=2,04$ $p=0,160$	$F_{1-3}=0,29$ $p=0,590$
	3	$F_{1-3}=1,20$ $p=0,279$	$F_{1-3}=0,32$ $p=0,572$	$F_{1-3}=2,22$ $p=0,143$
	4	$F_{1-3}=0,04$ $p=0,850$	$F_{1-3}=0,96$ $p=0,331$	$F_{1-3}=0,09$ $p=0,769$

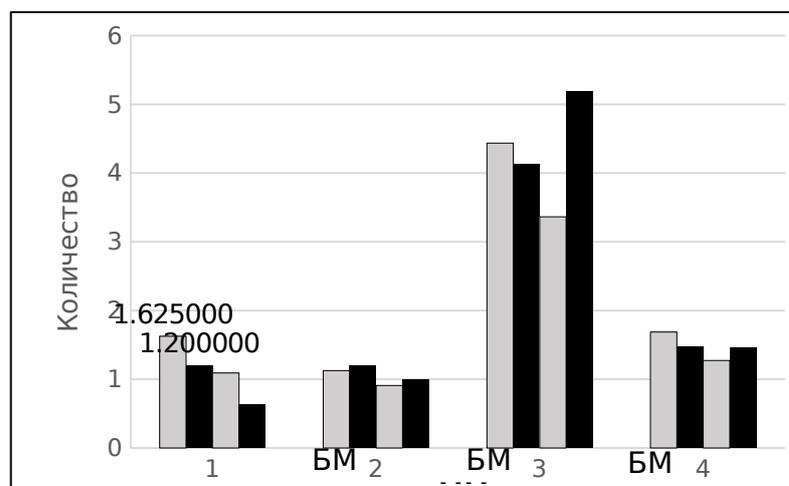


Рис. 9. Среднее число подходов к лазу у мышей 4 групп в тесте на поиск входа в укрытие. 4 пробы. Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - после иммобилизации. \* - дост. отл. от контрольной группы

ММ при  $p \leq 0,05$ . # - дост. отл. от группы ММ после стресса при  $p \leq 0,05$  (post hoc LSD анализ по Фишеру).

По числу стоек в первой и третьей пробе животные линии БМ после иммобилизации достоверно превосходили БМ-контроль, а также мышей ММ после иммобилизации (рис. 10). Эти различия указывают на более активное исследовательское поведение мышей экспериментальной группы. Более четко оно было выражено в пробах, когда животное сталкивалось с новым условием (в 1-й пробе мышь впервые помещалась в камеру, а в 3-й – лаз маскировался необычным препятствием – пробкой). В последнем случае у мышей ММ после иммобилизации число стоек также было выше, чем в контроле, хотя и было достоверно ниже в сравнении с соответствующей группой БМ. В первой пробе стоек у обеих групп ММ было значимо меньше, чем у БМ, что отражает более слабо выраженную исследовательскую активность мышей ММ.

Число эпизодов груминга было небольшим для мышей всех 4 групп. В 1-й и 2-й пробах оно было очень низким у мышей БМ и ММ, подвергшихся иммобилизационному воздействию (рис. 11). Однако у БМ случаев груминга было мало и в контроле (в контроле у ММ этот показатель был выше). Более высокие значения среднего ЛП решения 1-й пробы (т.е. среднего времени пребывания на свету до ухода через лаз) у контрольных мышей ММ свидетельствует о более медленном «решении» теста в этой пробе (с открытым лазом), что, вероятно, обусловлено большей, чем у БМ, тревожностью этих животных из-за помещения в камеру.

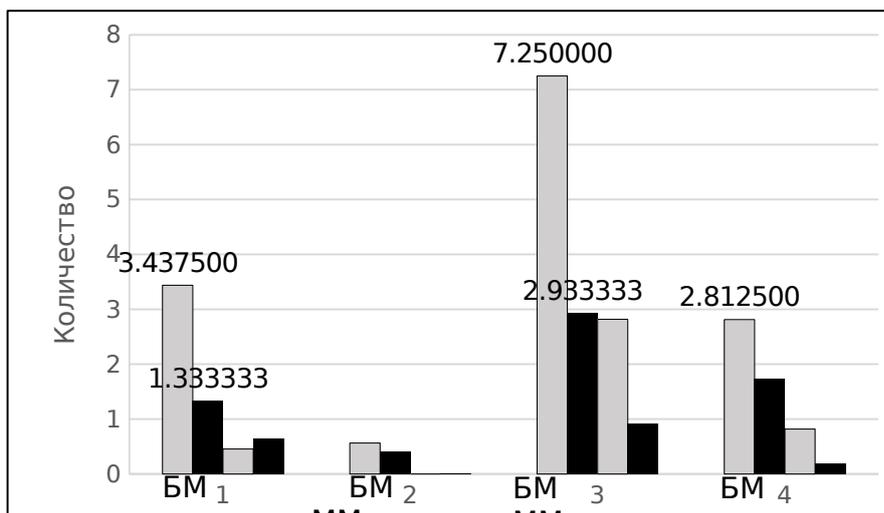


Рис. 10. Среднее число стоек у мышей 4 групп в тесте на поиск входа в укрытие. 4 пробы. Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - после иммобилизации. \*, \*\*, \*\*\*- дост. отл. от группы БМ после иммобилизации при  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  и  $p \leq 0,001$ , соответственно (post hoc LSD анализ по Фишеру).

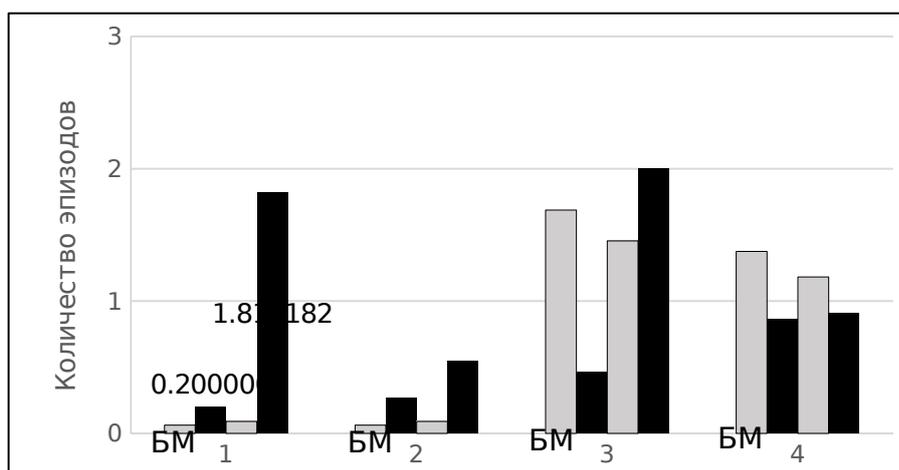


Рис. 11. Среднее число эпизодов груминга у мышей 4 групп в тесте на поиск входа в укрытие. 4 пробы. Черные столбики - контрольные группы, серые столбики - после иммобилизации. \*\* - дост. отл. от контрольной группы ММ при  $p \leq 0,01$  (post hoc LSD анализ по Фишеру).

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Эксперименты, проведенные в рамках настоящей работы, выявили межлинейные различия между мышами двух линий (БМ и ММ), ранее селектированных на большой и малый относительный вес мозга (Перепелкина и др., 2013). Как уже упоминалось, в настоящее время эти линии разводятся аутбредно без поддерживающей селекции на вес мозга. Межлинейные различия в весе мозга между ними сохраняются, также, как обнаруживаются и различия в поведении, выявленные и в наших экспериментах. Описанные ранее межлинейные различия не отличаются большой устойчивостью, но в целом их можно охарактеризовать как более высокую способность к решению когнитивных тестов мышей БМ и большую подверженность тревожности и состоянию, связанному с депрессией, у мышей ММ (Перепелкина и др., 2019). Данные, полученные в настоящей работе, свидетельствуют о сохранении межлинейных различий между БМ и ММ в контрольных группах, но также и о различиях в реакции мышей этих линий на двухчасовое пребывание в состоянии иммобилизации, которое (по литературным данным, см. Bowers et al., 2008; Buynitsky, Mostofsky, 2009; Zimprich et al., 2014; Chu et al., 2016; Ngoupaye et al., 2018) вызывает у лабораторных крыс и мышей типичную стресс-реакцию (“restrain stress”).

Анализ поведения мышей 4 групп предполагает подразделение его на несколько стадий, для которых надо: 1) сравнить показатели поведения контрольных групп мышей БМ и ММ, 2) сравнить влияние иммобилизации на мышей внутри

каждой из линий, а также 3) сравнить показатели поведения мышей БМ и ММ после стресса. Проведение анализа неизбежно требует повторения некоторых суждений, но сложность картины не позволяет дать более сжатое описание полученных данных. В этом разделе сначала представлены данные по тестам на стартл-реакцию, гипонеофагию и теста «неизбегаемая скользкая воронка», а данные по решению теста на поиск входа в укрытие обсуждаются отдельно.

Сравнение показателей тестов на стартл-реакцию, неизбегаемой скользкой воронки и на гипонеофагию у контрольных групп (межлинейные различия) у мышей БМ и ММ. Тест «стартл-реакция». Мыши всех групп не обнаружили чрезмерно выраженной стартл-реакции. Однако у мышей БМ ее интенсивность была достоверно выше (как в контроле, так и у мышей после иммобилизации). Этот результат важен с точки зрения общей оценки реактивности ЦНС (Groves et al., 1974) животных этих двух линий. Несмотря на более сильно выраженную тревожность и склонность к депрессии у линии ММ, которую они обнаруживали во всех трех селекционных экспериментах (Перепелкина и др., 2013), акустическая стартл-реакция как показатель возбудимости стволовых структур мозга у мышей ММ оказалась ниже. В предыдущем исследовании стартл-реакции на щелчок у мышей БМ и ММ, проведенном в 7 поколении после прекращения селекции (Perpelkina et al., 2013), у мышей двух линий также были получены незначительные, но устойчивые по знаку различия в пяти последовательных предъявлениях звукового щелчка. Поскольку эти данные не вошли в описание

межлинейных различий в соответствующей статье, они впервые приводятся ниже (рис. 12).

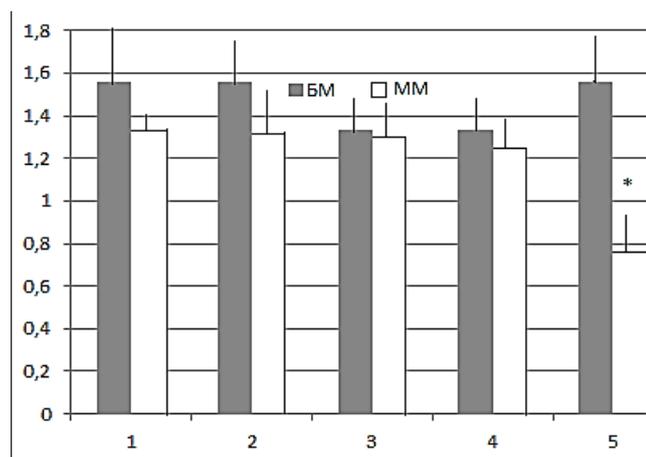


Рис. 12. Интенсивность стартл-реакции у мышей БМ и ММ в F28 (7-е поколение без селекции). \*- дост. отл. от показателя БМ при  $p < 0.01$  (post hoc LSD по Фишеру).

Генетические различия в данной реакции были выявлены также в контрольных группах 4 рекомбинантных инбредных линиях крыс (Conti, Printz, 2003).

Необходимо разграничивать вздрагивание, которое является нормальной реакцией организма на звук, и аудиогенный припадок – патологический ответ на сильный раздражитель (Маркина и др., 1999б). Установлено, что для мышей, склонных к судорожной активности, характерна более высокая чувствительность к щелчку. Так, различия в реакции на акустический стимул были обнаружены между мышами с мутацией *тсерh/тсерh*, приводящей к увеличению размеров мозга и судорогам (Donahue et al., 1996; Diez et al., 2003), и мышами дикого типа: сверхчувствительность к щелчку демонстрировали мыш-мутанты (Fisahn et al., 2011). Чувствительность к щелчку мышей *тсерh* была сопряжена с повышенной возбудимостью нейронов гиппокампа (Fisahn et al., 2011).

*Тест «неизбегаемая скользкая воронка».* Тест «неизбегаемая скользкая воронка» позволяет оценить предрасположенность животного к депрессивно-подобному поведению, что определяется типом стратегии, которую проявляет животное, чтобы выбраться из некомфортной ситуации. Как упоминалось выше, контрольные мыши БМ пребывали в состоянии неподвижности в горловине воронки достоверно дольше, чем контроль ММ. Однако число эпизодов состояния неподвижности было у БМ несколько (недостоверно) ниже, чем у ММ. Это означает, что смена активных «стратегий» на состояние неподвижности и у БМ, и у ММ была сходной.

По показателям реакции избавления (мышь принимает напряженную «распластанную позу» над горловиной воронки) контрольные мыши ММ достоверно превосходили БМ. Применение другой активной стратегии – избегания (активные прыжки в попытке выпрыгнуть из воронки) – занимало у мышей каждой линии меньше времени, чем неподвижность и реакция избавления, возможно в связи с необходимостью мышечного напряжения и энергетических затрат. Но, следует отметить, мыши БМ провели (недостоверно) больше времени, используя реакцию избегания, а также чаще использовали ее в качестве альтернативной пассивной стратегии. Таким образом, попадая в аверсивные условия, контрольные мыши ММ предпочитали стратегию избавления (активная стратегия), которая представляется наиболее адекватной в данном тесте – мышь располагается над уровнем воды в «распластанной позе», не совершая лишних (заведомо бесполезных) попыток выбраться с помощью прыжков. В то же время мыши БМ, в

сравнении с ММ, чаще обращались к двум «крайним» стратегиям – неподвижности и избеганию.

В более ранних работах мыши БМ и ММ демонстрировали противоположные результаты в тесте неизбегаемой воронки: мыши БМ превосходили мышей ММ по продолжительности реакции избавления и избегания, тогда как мыши ММ дольше сохраняли неподвижность (Маркина и др., 1999; Перепелкина, 2009).

*Тест на гипонеофагию.* Данный тест позволяет оценить реакцию животного на незнакомую пищу в новой обстановке. Поведение животного в этом случае складывается из трех компонентов – тревожности, исследовательской активности и пищевой мотивации – и зависит от их баланса (Campos et al., 2013; Голибродо и др., 2014). Мыши БМ и ММ контрольных групп съедали одинаковое количество новой пищи (сыра) за время теста (5 мин). Число подходов к кормушке, как и время, занятое едой, у БМ было выше (недостаточно), чем у ММ. Иными словами, в условиях пищевой депривации, т.е. у голодных мышей контрольных групп, существенных различий в реакции на новую пищу в новых условиях не обнаружилось. Однако знак различий между контролем БМ и ММ по числу подходов к пище и времени поедания совпадает с таковым у мышей из F33, т.е. из 11-го поколения без поддерживающей селекции (Тарасова, 2018). Вероятно, подобные различия косвенно указывают на большую тревожность, вызванную новизной обстановки и пищи, у мышей ММ.

Оценка показателей тестов на стартл-реакцию, неизбегаемой скользкой воронки и на гипонеофагию у мышей БМ и ММ после двухчасовой иммобилизации («restraint

stress»). *Тест на стартл-реакцию*. Отличий в показателях акустической стартл-реакции после иммобилизации у мышей БМ и ММ выявлено не было.

*Тест «неизбегаемая скользкая воронка»*. У мышей линии БМ длительность состояния неподвижности и время, занятое реакцией избавления, после иммобилизации были незначительно ниже, чем у контроля. Однако число эпизодов неподвижности при этом было достоверно больше, чем в контроле. Одновременно с этим достоверно возросло число эпизодов избегания (т.е. состояние стресса изменило интенсивность смены пассивной и активной стратегий), как была выше и общая продолжительность данной стратегии в сравнении с контрольными мышами БМ (см. выше).

У мышей ММ после иммобилизационного воздействия было достоверно длиннее, чем в контроле, время пребывания в состоянии неподвижности, тогда как число эпизодов состояния неподвижности от контроля у них не отличалось. Время, занятое реакцией избавления, у стресс-группы ММ было достоверно короче, чем у контрольных мышей (т.е. «направление различий» оказалось противоположным таковому у мышей БМ). Число эпизодов проявления данной стратегии у ММ после иммобилизации было достоверно ниже по сравнению с контролем (у БМ и после стресса, и в контроле оно было одинаковым). И время, занятое реакцией избавления, и число эпизодов этой реакции у мышей ММ после иммобилизации было достоверно больше, чем у контрольных.

Полученные данные показывают, что на фоне развития стресса, вызванного двухчасовой иммобилизацией, при выборе стратегии у мышей линии ММ происходит сдвиг в сторону

пассивных реакций (по сравнению со своим контролем). В то же время у БМ после иммобилизации обнаруживается сдвиг в сторону активной стратегии избегания (в сравнении с их контролем), а также более частая смена пассивной и активной стратегий. По аналогии с тестом Порсолта (Porsolt et al., 1977), использование животным пассивной стратегии следует рассматривать как проявление животным склонности к формированию депрессивно-подобного состояния (Salimov, 1999). Таким образом, полученные данные показывают, что после двухчасового периода ограничения движений такая склонность (к депрессии) у мышей ММ была выше. Можно заключить, что у мышей ММ (в отличие от БМ) состояние стресса способствует развитию депрессивно-подобного состояния. О склонности ММ к формированию депрессивно-подобного фенотипа сообщают и более ранние работы по изучению двух линий (Перепелкина и др., 2013). Сходный с линией ММ эффект, сопровождаемый ангедонией (снижение предпочтения раствора сахарозы), был также обнаружен у мышей (Ngouyaye et al., 2018), как и в случае 24-часовой иммобилизации (Chu et al., 2016), когда было выявлено изменение экспрессии ряда генов.

В целом в этом тесте поведение мышей двух линий обнаружило зависимость от генотипа, как в контроле, так и после воздействия. Наличие генетического компонента в развитии стресса также подтверждает большое количество работ, проведенных на трансгенных животных с измененной экспрессией генов или на разных линиях, полученных в ходе отбора по определенным признакам (см. раздел «Генетический контроль стресса»).

*Тест на гипонеофагию.* Показатели этого теста в контроле и после иммобилизации у мышей БМ были практически одинаковыми. Однако вес съеденной новой пищи у стресс-группы мышей БМ был достоверно ниже, чем у мышей ММ, как и число подходов к кормушке (недостоверно).

И вес съеденной пищи, и число подходов к кормушке у мышей ММ после иммобилизации были достоверно выше, чем в контроле. Воздействие стрессора (иммобилизации) привело и к увеличению времени, затраченного животными ММ на еду (недостоверно). Иными словами, состояние стресса, по всей видимости, снизило у мышей ММ уровень тревоги, спровоцированной боязнью новизны, причем возможно, что этот эффект был связан и с несколько более высокой пищевой мотивацией.

Сравнение поведения мышей 4 групп в описанных выше тестах представлено в таблице 4. Стрелками показано направление различий средних величин показателей между группами; \*, \*\*, \*\*\* – достоверные различия при  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ , соответственно; знаком «=» – отсутствие различий.

Таблица 4

Общая картина различий между показателями поведения мышей 4 групп линий БМ и ММ

Группа	Тест «Неизбегаемая скользкая воронка»						Тест на гипонеофагию		Тест на старт-реакцию
	неподвижность		избавление		избегание		Вес съеденного	Подходы к кормушке	
	время	число эпизодов	время	число эпизодов	время	число эпизодов			

							сыра		
БМ стресс vs БМ контрол ь	↓	** ↑	↓	=	*** ↑	* ↑	=	=	=
ММ стресс vs ММ контрол ь	*** ↑	=	** ↓	* ↓	↑	↑	** ↑	* ↑	=
контрол ь БМ vs ММ	*** ↑	=	*** ↓	=	*** ↑	** ↑	=	↑	*** ↑
Стресс БМ vs ММ	=	** ↑	↓	=	*** ↑	*** ↑	** ↓	↓	*** ↑

Решение теста на поиск входа в укрытие у мышей четырех групп. Успешное выполнение данного теста предполагает у животного способность оперировать эмпирическим законом «неисчезаемости» предмета (предмет продолжает существовать после исчезновения его из поля зрения субъекта, по Ж. Пиаже и Л. В. Крушинскому, Перепелкина и др., 2019). Мышь может решить данный тест в том случае, если у нее есть *понимание*, что лаз может быть обнаружен, несмотря на то, что перестал быть видимым.

На решение данного теста во всех четырех пробах контрольные мыши ММ тратили больше времени, чем БМ из соответствующей группы: средний ЛП решения этого теста был длиннее (в разной степени) у контроля ММ, чем у БМ. Достоверной эта разница была только для решения 1 пробы (открытый лаз), которая характеризуется отсутствием «когнитивного» компонента теста. Причина подобных расхождений между контрольными группами двух линий может заключаться в том, что в целом обстановка теста

вызывала у мышей ММ более высокую тревожность, затруднявшую быстрое решение теста.

Успешность решения этого теста – доли мышей, решивших тест – была выше у контрольных мышей БМ (достоверно для 1 и 3 проб, для 2 и 4 на уровне тенденции), что также свидетельствует о лучших результатах в решении теста мышами БМ. Это согласуется данными, полученными на мышах предыдущих поколений (Перепелкина и др., 2013, 2019).

При анализе данных по ЛП решения этого теста в разных пробах (особенно в двух последних, «когнитивных» пробах) обращает на себя внимание тот факт, что различия между контрольными и опытными группами мышей БМ и ММ имели противоположное направление. Более короткие латентности нахождения лаза и перехода в темный отсек были в контроле у БМ (и более длинные после иммобилизации), в то время как более длинные ЛП у ММ обнаружены в контроле по сравнению с более короткими после иммобилизации (в 3-ей пробе, т.е. первом столкновении с маскировкой лаза при помощи пробки). Различий в успешности решения теста в 3-й и 4-й пробах в группах после иммобилизации между БМ и ММ не выявлено (с несколько более низкой долей решивших тест мышей у ММ в 3-й пробе).

Таким образом, согласно данным по долям животных, решивших «когнитивные» пробы данного теста, достоверных различий как между линиями, так и между экспериментальной и контрольной группами внутри линий не было обнаружено. Разница по показателям успешности и скорости прохождения теста была достоверной только для первой пробы, в которой

лаз остается открытым и применение эмпирического закона «неисчезаемости» предмета не является необходимым условием для попадания в более «безопасный» темный отдел. Показатели этой пробы теста следует рассматривать как тест на избегание новой, некомфортной обстановки (аналогичной тесту «светло-темная камера») (Kuleshkaya, Voikar, 2014). Следовательно, можно предположить, что выявленные различия в решении первой пробы теста отражают, скорее, различия в уровне тревожности. Развитие стресса в ответ на иммобилизацию приводило к увеличению числа животных, справившихся с 1-й пробой, в группе ММ в сравнении с контролем, что может быть связано с более низким уровнем тревожности после иммобилизации. В то же время более высокий уровень тревоги контрольных мышей ММ препятствовал адекватному поиску убежища, заставляя их находиться в пределах светлого отсека. Контрольная группа ММ достоверно слабее справлялась с поиском входа и тратила больше времени на этот процесс, чем контроль БМ, что свидетельствует о более низком уровне тревожности у мышей линии БМ. Это согласуется с данными по числу актов груминга, согласно которым контрольная группа ММ чаще прибегала к чистке шерсти, т.е. демонстрировала большую тревожность, чем «стрессовая» группа той же линии и контроль линии БМ.

Интересно отметить, что уровень тревоги, продемонстрированный контрольными мышами ММ в 1-й пробе, снижается во 2-й пробе, в т.ч. и по показателю груминга, который имеет самое низкое значение в 4-х пробах для данной группы мышей. Возможно, что копание субстрата

(2-я проба), которое следует отнести к видоспецифической форме поведения мыши, снижало тревожность мышей ММ и способствовало более четкому решению теста. Косвенно на это указывает нулевое число стоек в контрольной и экспериментальной группах мышей ММ во 2-й пробе, и так немногочисленных, по сравнению с мышами БМ на протяжении всех проб.

В то же время напомним, что в тесте на гипонеофагию (боязнь новой пищи) у мышей ММ после иммобилизации поведение также было более активным. Возможным объяснением этому служит то, что у голодного животного в тесте на гипонеофагию умеренная тревожность, вызванная новизной обстановки, подавляется повышенной пищевой мотивацией. Сходный анксиолитический эффект на мышей ММ оказывала инъекция этилового спирта в тесте ПКЛ (Маркина и др., 2003; Перепелкина и др., 2013).

В стресс-группе мышей БМ в 3-й пробе (первая встреча с замаскированным пробкой лазером) появляются эпизоды груминга, практически отсутствовавшие в первых двух пробах. Отметим, что у них было и достоверно большее число стоек в этой пробе, а также несколько большая доля успешных решений (недостоверно), чем у остальных мышей. Это может свидетельствовать о том, что столкновение со сложно замаскированным лазером вызывает у мышей этой группы (т.е. стресс у БМ) активацию поведения в целом, которая имеет результатом и более успешное решение теста.

Для мышей линии БМ обнаружены статистически значимые различия в уровне исследовательской активности как внутри линии, так и межлинейные. Иммобилизация

вызывала усиление исследовательского поведения как в сравнении с интактными мышами БМ, так и с соответствующей группой ММ. Его пик пришелся на 3-ю пробу, а минимальные значения – на 2-ю пробу. Объяснение подобной тенденции представлено выше. Усиление исследовательской активности в ответ на острое действие стрессора (иммобилизации) было обнаружено в одной из недавних работ (Zimprich al., 2014). Однако противоположный эффект также имел место в экспериментах Sturman и коллег (Sturman et al., 2018), что, возможно, было обусловлено разным уровнем активации стрессовых систем.

В целом полученные сравнительные данные свидетельствуют о существовании различий в поведении как между мышами контрольных групп линий БМ и ММ, так и между группами мывшей этих линий после двухчасовой иммобилизации, которая дифференцированно влияет на развитие стресс-реакции у мышей.

## ВЫВОДЫ

1. У мышей линий БМ и ММ (различающихся по относительному весу мозга в условиях разведения без отбора в 17 поколениях) выявлены межлинейные различия в поведении по уровням тревожности, исследовательской активности, склонности к депрессивному состоянию, успешности решения когнитивного теста.
2. Воздействие стрессора (иммобилизации) уменьшало уровень тревожности мышей линии ММ (но не БМ), что проявилось в снижении боязни новой пищи.
3. У мышей линии БМ воздействие стрессора вызвало более высокий уровень исследовательской активности, особенно в ответ на изменение окружающих условий, тогда как у мышей ММ этот показатель не изменялся.
4. Иммобилизация привела к противоположным эффектам: формированию депрессивно-подобного состояния у мышей линии ММ, а у мышей БМ - к более частому выбору активной стратегии в тесте неизбегаемой скользкой воронки (аналоге теста Порсолта).
5. Развитие стресса оказывало влияние разной направленности в зависимости от контекста (условий): у мышей линии ММ оно приводило к усилению депрессивно-подобного фенотипа в неизбегаемой ситуации, но редуцировало тревожность в более щадящих условиях (новизна обстановки).
6. Достоверных различий, вызванных стрессом иммобилизации, в решении когнитивного теста на

неисчезаемость выявлено не было, хотя способность мышей линии БМ к его решению была несколько выше.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голибродо В.А., Перепелкина О.В., Лильп И.Г., Полетаева И.И., Поведение мышей, селектированных на когнитивный признак, в тесте на гипонеофагию // Журн. высш. нервн. деят. 2014. №6. С. 236-243.
2. Куприянов Р.В., Жданов Р.И. Стресс и аллостаз: проблемы, перспективы и взаимосвязь // Журн. высш. нервн. деят. 2014. Т.64. №1. С. 21-31.
3. Маркина Н.В., Попова Н.В., Полетаева И. И. Межлинейные различия в поведении мышей селектированных на большую и малую массу мозга // Журн. высш. нервн. деят. 1999а. Т.49. №1. С. 59-64 (цит. по Перепелкина и др., 2013).
4. Маркина Н.В., Попова Н.В., Салимов Р. М., Салимова Н.Б., Савчук О. В., Полетаева И. И. Сравнение уровня тревожности и стресс-реактивности мышей, селектированных на большой и малый вес мозга // Журн. высш. нервн. деят. 1999б. Т.49. № 4. С.789-198 (цит. по Перепелкина и др., 2013).
5. Маркина Н.В., Перепелкина О. В., Салимов Р.М., Майский О.В., Полетаева И.И. Корреляция веса мозга и изменения поведения в ответ на введение этанола у лабораторных мышей // Генетика. 2003. Т. 39. № 6. С. 826-830.
6. Меркулов В.М., Меркулова Т.И. Место связывания глюкокортикоидного рецептора на ДНК и структурные варианты глюкокортикоидных регуляторных элементов: данные, собранные в базе gr-trrd // Экологическая генетика. Т.4. №4. 2006. С. 20-31.
7. Перепелкина О. В. Поведение мышей, селектированных на большой и малый вес мозга. Автореферат на соискание

- ученой степени кандидата биологических наук. М., 2009. 22 с.
8. Перепелкина О.В., Маркина Н.В., Полетаева И.И. Способность к экстраполяции направления движения у мышей, селектированных на большой и малый вес мозга: влияние пребывания в «обогащённой» среде // Журн. высш. нервн. деят. 2006. Т.56. № 2. С.282-286.
  9. Перепелкина О. В., Лильп И. Г., Маркина Н. В., Голибродо В. А., Полетаева И. И. Селекция мышей на большой и малый вес мозга // Формирование поведения животных в норме и патологии: к 100-летию со дня рождения Л.В. Крушинского (1911-1984). М.: Языки славянской культуры, 2013. С.247-262.
  10. Перепелкина О. В., Тарасова А. Ю., Огиенко Н. А., Лильп И. Г., Полетаева И. И. Вес мозга и когнитивные способности лабораторной мыши // Успехи современной биологии. 2019. Т. 139. № 5. С. 434-445.
  11. Попова Н. В., Кесарев В.С., Полетаева И. И., Романова Л. Г. Цитоархитектоника коры головного мозга мышей, селектированных на большой и малый относительный вес мозга // Журн. высш. нервн. деят. 1983. Т.33. №5. С. 576-582. (цит. по Перепелкина и др., 2013).
  12. Попова Н.В., Полетаева И.И. Выработка условного оборонительного рефлекса у мышей, генетически различающихся по весу мозга // Журн. высш. нервн. деят. 1985. Т.35. №. С.170-172. (цит. по Перепелкина и др., 2013).
  13. Попова Н.В., Полетаева И.И. Исследование некоторых особенностей поведения мышей селектированных на разную массу мозга // Вестн. моск. ун-та. 1983а. Сер.16. Биология. №3. С 30-34. (цит. по Перепелкина и др., 2013).

14. Попова Н.В., Полетаева И.И. Способность к решению экстраполяционной задачи у мышей, селективных на большой и малый вес мозга // Журн. высш. нервн. деят. 1983б. Т. 33. № 2. С. 370-372. (цит. по Перепелкина и др., 2013).
15. Попова Н.В., Полетаева И.И., Романова Л.Г. Селекция мышей на большой и малый вес мозга // Докл. АН СССР. 1976. Т. 240. №5. С. 1234-1236 (цит. по Перепелкина и др., 2013).
16. Попова Н.В., Полетаева И.И., Романова Л.Г. Способность к обучению и экстраполяции у мышей селективных на большой и малый вес мозга // Журн. высш. нервн. деят. 1981. Т.31. №3. С.550-555. (цит. по Перепелкина и др., 2013).
17. Тарасова А.Ю. Неофилия и тревожность в проявлении когнитивных способностей (на примере лабораторной мыши). Автореферат на соискание ученой степени кандидата биологических наук. М., 2018. 22 с.
18. Adamec R., Walling S., Burton P. Long-lasting, selective, anxiogenic effects of feline predator stress in mice // *Physiol Behav.* 2004. V. 83. N.3. P. 401-410.
19. Adams W., Kusljic S., Van den Buuse M. Serotonin depletion in the dorsal and ventral hippocampus: effects on locomotor hyperactivity, prepulse inhibition and learning and memory // *Neuropharmacology.* 2008. V. 55. N. 6. P. 1048-1055.
20. Agnew-Blais J., Danese A. Childhood maltreatment and unfavourable clinical outcomes in bipolar disorder: a systematic review and meta-analysis // *Lancet Psychiatry.* 2016. V.3. N. 4. P. 342-349. (цит. по Zorn et al., 2017).

21. Ahn K.J., Jeong H.K., Choi H.S. et al. DYRK1A BAC transgenic mice show altered synaptic plasticity with learning and memory defects // *Neurobiol Dis.* 2006. V. 22. N. 3. P. 463-472.
22. Alfonso J., Pollevick G.D., Van Der Hart M.G., Flügge G., Fuchs E., Frasch A.C. Identification of genes regulated by chronic psychosocial stress and antidepressant treatment in the hippocampus // *Eur J Neurosci.* 2004. V. 19. N. 3. P. 659-666.
23. Almgren M., Persson A.S., Fenghua C. et al. Lack of potassium channel induces proliferation and survival causing increased neurogenesis and two-fold hippocampus enlargement // *Hippocampus.* 2007. V. 17. N. 4. P. 292-304.
24. Armario A., Daviu N., Muñoz-Abellán C., Rabasa C., Fuentes S., Belda X., Gagliano H., Nadal R. What can we know from pituitary-adrenal hormones about the nature and consequences of exposure to emotional stressors? // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2012. V. 32. P. 749-58. (цит. по Myers et al., 2017).
25. Aspesi D., Pinna G. Animal models of post-traumatic stress disorder and novel treatment targets // *Behav Pharmacol.* 2019. V. 30. N. 2 and 3. P. 130-150.
26. Bale T.L., Contarino A., Smith G.W. et al. Mice deficient for corticotropin-releasing hormone receptor-2 display anxiety-like behaviour and are hypersensitive to stress // *Nat Genet.* 2000. V. 24. N. 4. P. 410-414.
27. Bale T.L., Vale W.W. CRF and CRF receptors: role in stress responsivity and other behaviors // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004. V. 44. P. 525-557 (цит. по Gunnar, Quevedo, 2007).
28. Beatty J., Laughlin R.E. Genomic regulation of natural variation in cortical and noncortical brain volume // *BMC Neurosci.* 2006. V.7. N. 1. P. 1-10.

29. Belknap J.K., Phillips T.J., O'Toole L.A. Quantitative trait loci associated with brain weight in the BXD/Ty recombinant inbred mouse strains // *Brain Res Bull.* 1992. V. 29. N.3-4. P. 337-344.
30. Bernard C. Leçons sur les propriétés physiologiques et les altérations pathologiques des liquides de l'organisme. Paris, Baillière, 1859. (цит. по Fink, 2016).
31. Bernard C. Les phenomenes de la vie. Paris, Librairie J-B Bailliere et Fils, 1878. 879 p. (цит. по Johnson et al., 1992).
32. Bhatnagar S., Vining C., Denski K. Regulation of chronic stress-induced changes in hypothalamic-pituitary-adrenal activity by the basolateral amygdala // *Ann N Y Acad Sci.* 2004. V. 1032. P. 315-319.
33. Blaess S., Stephen D., Joyner A.L. Gli3 coordinates three-dimensional patterning and growth of the tectum and cerebellum by integrating Shh and Fgf8 signaling // *Development.* 2008. V.135. N.12. P. 2093-2103.
34. Bond J., Woods C.G. Cytoskeletal genes regulating brain size // *Curr Opin Cell Biol* 2006. V.18. P. 95-101.
35. Bowers S.L., Bilbo S.D., Dhabhar F.S., Nelson R.J. Stressor-specific alterations in corticosterone and immune responses in mice // *Brain Behav Immun.* 2008. V. 22. N. 1. P. 105-113.
36. Boyd J.L., Skove S.L., Rouanet J.P. et al. Human-chimpanzee differences in a FZD8 enhancer alter cell-cycle dynamics in the developing neocortex // *Curr Biol.* 2015. V. 25. N. 6. P. 772-779.
37. Boyle M.P., Brewer J.A., Funatsu M. et al. Acquired deficit of forebrain glucocorticoid receptor produces depression-like changes in adrenal axis regulation and behavior // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005. V.102. N.2. P. 473-478.

38. Boyle M.P., Kolber B.J., Vogt S.K., Wozniak D.F., Muglia L.J. Forebrain glucocorticoid receptors modulate anxiety-associated locomotor activation and adrenal responsiveness // *J Neurosci*. 2006. V.26. N.7. P. 1971-1978.
39. Branchi I., Bichler Z., Minghetti L. et al. Transgenic mouse in vivo library of human Down syndrome critical region 1: association between DYRK1A overexpression, brain development abnormalities, and cell cycle protein alteration // *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004. V.63. N.5. P.429-440.
40. Bremner J.D. Stress and brain atrophy // *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2006. V.5. N.5. P.503-512.
41. Buynitsky T., Mostofsky D.I. Restraint stress in biobehavioral research: Recent developments // *Neurosci Biobehav Rev*. 2009. V.33. N.7. P.1089-1098.
42. Campos A.C., Fogaça M.V., Aguiar D.C., Guimarães F.S. Animal models of anxiety disorders and stress // *Braz J Psychiatry*. 2013. V. 35. P. 101-111.
43. Cannon W. B. Stresses and strains of homeostasis // *Am J Med Sci*. 1935. V.189. P.1-14. (цит. по Simm, Klotz, 2015).
44. Cannon W. B. *The Wisdom of the Body*. New York: W W Norton & Co., 1932. (цит. по Fink, 2016).
45. Chen C., Fuller J.L. Neonatal thyroxine administration, behavioral maturation, and brain growth in mice of different brain weight // *Dev Psychobiol*. 1975. V.8. P. 355-361.
46. Chen L., Melendez J., Campbell K., Kuan C.Y., Zheng Y. Rac1 deficiency in the forebrain results in neural progenitor reduction and microcephaly // *Dev Biol*. 2009. V. 325. N. 1. P.162-170.
47. Chen Q., Kogan J.H., Gross A.K. et al. SREB2/GPR85, a schizophrenia risk factor, negatively regulates hippocampal adult

- neurogenesis and neurogenesis-dependent learning and memory // *Eur J Neurosci*. 2012. V.36. N.5. P.2597-2608.
48. Chen Y.C., Harrison P.W., Kotrschal A., Kolm N., Mank J.E., Panula P. Expression change in Angiopoietin-1 underlies change in relative brain size in fish // *Proc Biol Sci*. 2015. V. 282. N. 1810. P. 1-9.
49. Chenn A., Walsh C.A. Increased neuronal production, enlarged forebrains and cytoarchitectural distortions in beta-catenin overexpressing transgenic mice // *Cereb Cortex*. 2003. V.13. N.6. P. 599-606.
50. Chenn A., Walsh C.A. Regulation of cerebral cortical size by control of cell cycle exit in neural precursors // *Science*. 2002. V.297. N.5580. P.365-369.
51. Chetty S., Friedman A.R., Taravosh-Lahn K. et al. Stress and glucocorticoids promote oligodendrogenesis in the adult hippocampus // *Mol Psychiatry*. 2014. V.19. N.12. P.1275-1283.
52. Chiba S., Numakawa T., Ninomiya M., Richards M.C., Wakabayashi C., Kunugi H. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012. V.39. N.1. P.112-119.
53. Chien H.C., Wang H.Y., Su Y.N. et al. Targeted disruption in mice of a neural stem cell-maintaining, KRAB-Zn finger-encoding gene that has rapidly evolved in the human lineage // *PLoS One*. 2012. V. 7. N. 10. P.1-16.
54. Chmielarz P., Kuśmierczyk J., Parlato R., Schütz G., Nalepa I., Kreiner G. Inactivation of glucocorticoid receptor in

- noradrenergic system influences anxiety- and depressive-like behavior in mice // *PLoS One*. 2013. V. 8. N. 8. P.1-6.
55. Choi D.C., Furay A.R., Evanson N.K., Ostrander M.M., Ulrich-Lai Y.M., Herman J.P. Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs // *J Neurosci*. 2007. V.2. N.8. P.2025-2034.
56. Chou-Green J.M., Holscher T.D., Dallman M.F., Akana S.F. Repeated stress in young and old 5-HT(2C) receptor knockout mice // *Physiol Behav*. 2003. V.79. N.2. P.217-226.
57. Christian K.M., Miracle A.D., Wellman C.L., Nakazawa K. Chronic stress-induced hippocampal dendritic retraction requires CA3 NMDA receptors // *Neuroscience*. 2011. V.174. P.26-36.
58. Chu X., Zhou Y., Hu Z. et al. 24-hour-restraint stress induces long-term depressive-like phenotypes in mice // *Sci Rep*. 2016. V. 6. P.1-12.
59. Conti L.H., Printz M.P. Rat strain-dependent effects of repeated stress on the acoustic startle response // *Behav Brain Res*. 2003. V.144. N.1-2. P.11-18.
60. Dayas C.V., Buller K.M., Day T.A. Neuroendocrine responses to an emotional stressor: evidence for involvement of the medial but not the central amygdala // *Eur J Neurosci*. 1999. V.11. N.7. P.2312-2322.
61. Dayas C.V., Buller K.M., Crane J.W., Xu Y., Day T.A. Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups // *Eur J Neurosci*. 2001. V.14. N.7. P.1143-1152.

62. Depaepe V., Suarez-Gonzalez N., Dufour A. et al. Ephrin signalling controls brain size by regulating apoptosis of neural progenitors // *Nature*. 2005. V. 435. N.7046. P.1244-1250.
63. Dhabhar F.S., McEwen B.S., Spencer R.L. Adaptation to prolonged or repeated stress-comparison between rat strains showing intrinsic differences in reactivity to acute stress // *Neuroendocrinology*. 1997. V. 65. N. 5. P.360-368. (цит. по Herman et al., 2016).
64. Diez M., Schweinhardt P., Petersson S. et al. MRI and in situ hybridization reveal early disturbances in brain size and gene expression in the megencephalic (mceph/mceph) mouse // *Eur J Neurosci*. 2003. V.18. N.12. P.3218-3230.
65. Donahue L.R., Cook S.A., Johnson K.R., Bronson R.T., Davisson M.T. Megencephaly: a new mouse mutation on chromosome 6 that causes hypertrophy of the brain // *Mamm Genome*.1996. V.7. P. 871-876.
66. Ehlert U., Gaab J., Heinrichs M. Psychoneuroendocrinological contributions to the etiology of depression, posttraumatic stress disorder, and stress-related bodily disorders: the role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis // *Biol Psychol*. 2001. V.57. N.1-3. P.141-152.
67. Evanson N.K., Tasker J.G., Hill M.N., Hillard C.J., Herman J.P. Fast feedback inhibition of the HPA axis by glucocorticoids is mediated by endocannabinoid signaling // *Endocrinology*. 2010. V.151. P.4811-4819. (цит. по Herman et al., 2016).
68. Fanselow M.S., Dong H.W. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? // *Neuron*. 2010. V. 65. N.1. P.7-19.

69. Fassini A., Scopinho A.A., Alves F.H.F, Fortaleza E.A.T., Corrêa F.M.A. The medial preoptic area modulates autonomic function under resting and stress conditions // *Neuroscience*. 2017. V.364. P.164-174.
70. Feijóo C.G., Oñate M.G., Milla L.A., Palma V.A. Sonic hedgehog (Shh)-Gli signaling controls neural progenitor cell division in the developing tectum in zebrafish // *Eur J Neurosci*. 2011. V.33. N.4. P.589-598.
71. Felix-Ortiz A.C., Burgos-Robles A., Bhagat N.D., Leppla C.A., Tye K.M. Bidirectional modulation of anxiety-related and social behaviors by amygdala projections to the medial prefrontal cortex // *Neuroscience*. 2016. V.321. P.197-209.
72. Feng Y., Walsh C.A. Mitotic spindle regulation by Nde1 controls cerebral cortical size // *Neuron* 2004. V. 44. P.279-293.
73. Figueiredo H.F., Bodie B.L., Tauchi M., Dolgas C.M., Herman J.P. Stress integration after acute and chronic predator stress: differential activation of central stress circuitry and sensitization of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis // *Endocrinology*. 2003a. V.144. N.12. P.5249-5258. (цит. по Herman et al., 2016).
74. Figueiredo H.F., Bruestle A., Bodie B., Dolgas C.M., Herman J.P. The medial prefrontal cortex differentially regulates stress-induced c-fos expression in the forebrain depending on type of stressor // *Eur J Neurosci*. 2003b. V.18. N.8. P.2357-2364.
75. Fink G. In retrospect: Eighty years of stress // *Nature*. 2016. 539. N.7628. P.175-176.
76. Fisahn A., Lavebratt C., Canlon B. Acoustic startle hypersensitivity in Mceph mice and its effect on hippocampal excitability // *Eur J Neurosci*. 2011. V.34. N.7. P.1121-1130.

77. Florio M., Albert M., Taverna E. et al. Human-specific gene ARHGAP11B promotes basal progenitor amplification and neocortex expansion // *Science*. 2015. V.347. N.6229. P.1465-1470.
78. Fujita E., Tanabe Y., Shiota A. et al. Ultrasonic vocalization impairment of Foxp2 (R552H) knockin mice related to speech-language disorder and abnormality of Purkinje cells // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008. V.105. N.8. P.3117-3122.
79. Fuller J.L., Geils H.D. Brain growth in mice selected for high and low brain weight // *Dev Psychobiol*. 1972. V.5. P. 307-318.
80. Fuller J.L., Geils H.D. Behavioral development in mice selected for differences in brain weight // *Dev Psychobiol*. 1973. V.6. P. 469-474.
81. Fuller J.L., Herman B.H. Effect of genotype and practice upon behavioral development in mice // *Dev Psychobiol*. 1974. V.7. P. 21-30.
82. Furay A.R., Bruestle A.E., Herman J.P. The role of the forebrain glucocorticoid receptor in acute and chronic stress // *Endocrinology*. 2008. V.149. N.11. P.5482-5490.
83. Gambello M.J., Hirotsune S., Wynshaw-Boris A. Murine modelling of classical lissencephaly // *Neurogenetics*. 1999. V.2. N.2. P.77-86.
84. Geisert E.E.Jr, Williams R.W., Geisert G.R. et al. Increased brain size and glial cell number in CD81-null mice // *J Comp Neurol*. 2002. V.453. N.1. P.22-32.
85. Ghosal S., Bundzikova-Osacka J., Dolgas C.M., Myers B., Herman J.P. Glucocorticoid receptors in the nucleus of the solitary tract (NTS) decrease endocrine and behavioral stress responses // *Psychoneuroendocrinology*. 2014. V.45. P.142-153.

86. Godoy L.D., Rossignoli M.T., Delfino-Pereira P., Garcia-Cairasco N., de Lima Umeoka E.H. A Comprehensive Overview on Stress Neurobiology: Basic Concepts and Clinical Implications // *Front Behav Neurosci*. 2018. V.12. P.1-23.
87. Goebel M., Fleming S.M., Million M., Stengel A., Taché Y., Wang L. Mice overexpressing corticotropin-releasing factor show brain atrophy and motor dysfunctions // *Neurosci Lett*. 2010. V.473. N.1. P.11-15.
88. Gong S., Miao Y.L., Jiao G.Z. et al. Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice // *PLoS One*. 2015. V.10. N.2. P.1-14.
89. Govindarajan A., Rao B.S., Nair D. et al. Transgenic brain-derived neurotrophic factor expression causes both anxiogenic and antidepressant effects // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006. V.103. N.35. P.13208-13213.
90. Gray M., Bingham B., Viau V. A comparison of two repeated restraint stress paradigms on hypothalamic-pituitary-adrenal axis habituation, gonadal status and central neuropeptide expression in adult male rats // *J Neuroendocrinol*. 2010. V.22. N.2. P.92-101.
91. Groenink L., van Bogaert M.J., van der Gugten J., Oosting R.S., Olivier B. 5-HT<sub>1A</sub> receptor and 5-HT<sub>1B</sub> receptor knockout mice in stress and anxiety paradigms // *Behav Pharmacol*. 2003. V.14. N.5-6. P.369-383.
92. Groves P.M., Wilson C. J., Boyle R.D. Brain Stem Pathways, Cortical Modulation, and Habituation of the Acoustic Startle Response I // *Behav Biol*. 1974. V.10. P.391-418.

93. Gruber R., Zhou Z., Sukchev M., Joerss T., Frappart P.O., Wang Z.Q. MCPH1 regulates the neuroprogenitor division mode by coupling the centrosomal cycle with mitotic entry through the Chk1-Cdc25 pathway // *Nat Cell Biol.* 2011. V.13. N.11. P.1325-1334.
94. Gunnar M., Quevedo K. The neurobiology of stress and development // *Annu Rev Psychol.* 2007. V.58. P.145-173.
95. Hager R., Lu L., Rosen G.D., Williams R.W. Genetic architecture supports mosaic brain evolution and independent brain-body size regulation // *Nat Commun.* 2012. V.3. P.1-5.
96. Haller J., Kruk M.R. Normal and abnormal aggression: human disorders and novel laboratory models // *Neurosci Biobehav Rev.* 2006. V.30. N.3. P.292-303. (цит. по Veenema, Neumann, 2007).
97. Haller J., Varga B., Ledent C., Barna I., Freund T.F. Context-dependent effects of CB1 cannabinoid gene disruption on anxiety-like and social behaviour in mice // *Eur J Neurosci.* 2004. V.19. N.7. P.1906-1912.
98. Hawley D.F., Morch K., Christie B.R., Leasure J.L. Differential response of hippocampal subregions to stress and learning // *PLoS One.* 2012. V.7. N.12. P.1-7.
99. Henrotte J.G., Franck G., Santarromana M., Francès H., Mouton D., Motta R. Mice selected for low and high blood magnesium levels: a new model for stress studies // *Physiol Behav.* 1997. V.61. N.5. P.653-658.
100. Herman J.P., Dolgas C.M., Carlson S.L. Ventral subiculum regulates hypothalamo-pituitary-adrenocortical and behavioural responses to cognitive stressors // *Neuroscience.* 1998. V.86. N.2. P.449-459.

101. Herman J.P., Figueiredo H., Mueller N.K. et al. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness // *Front Neuroendocrinol.* 2003. V.24. N.3. P.151-180.
102. Herman J.P., McKlveen J.M., Ghosal S. et al. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response // *Compr Physiol.* 2016. V.6. N.2. P.603-621.
103. Hill M.N., Hillard C.J., McEwen B.S. Alterations in corticolimbic dendritic morphology and emotional behavior in cannabinoid CB1 receptor-deficient mice parallel the effects of chronic stress // *Cereb Cortex.* 2011. V.21. N.9. P.2056-2064.
104. Hollis F., van der Kooij M.A., Zanoletti O., Lozano L., Cantó C., Sandi C. Mitochondrial function in the brain links anxiety with social subordination // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015. V.112. N.50. P.15486-15491.
105. Holtzman C.W., Trotman H.D., Goulding S.M. et al. Stress and neurodevelopmental processes in the emergence of psychosis // *Neuroscience.* 2013. V.249. P.172-191. (цит. по Zorn et al., 2017).
106. Huang W., Zhou Z., Asrar S., Henkelman M., Xie W., Jia Z. p21-Activated kinases 1 and 3 control brain size through coordinating neuronal complexity and synaptic properties // *Mol Cell Biol.* 2011. V.31. N.3. P.388-403.
107. Iffland P. H., Crino, P. B. Focal cortical dysplasia: gene mutations, cell signaling, and therapeutic implications // *Annu. Rev. Pathol.* 2017. V.12. P. 547-571.
108. Imura T., Kobayashi Y., Suzutani K., Ichikawa-Tomikawa N., Chiba H. Differential expression of a stress-regulated gene

- Nr4a2 characterizes early- and late-born hippocampal granule cells // *Hippocampus*. 2019. V.29. N.6. P.539-549.
109. Jacobson L., Muglia L.J., Weninger S.C., Pacák K., Majzoub J.A. CRH deficiency impairs but does not block pituitary-adrenal responses to diverse stressors // *Neuroendocrinology*. 2000. V.71. N.2. P.79-87.
110. Jayaraman D., Kodani A., Gonzalez D.M. et al. Microcephaly Proteins Wdr62 and Aspm Define a Mother Centriole Complex Regulating Centriole Biogenesis, Apical Complex, and Cell Fate // *Neuron*. 2016. V.92. N.4. P.813–828.
111. Jayaraman D., Bae B.-I., Walsh C. A. The genetics of primary microcephaly // 2018. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* V.19. P.177–200.
112. Joëls M., Pasricha N., Karst H. The interplay between rapid and slow corticosteroid actions in brain // *Eur J Pharmacol.* 2013. V.719. N.1-3. P.44-52
113. Johnson E.O., Kamilaris T.C., Chrousos G.P., Gold P.W. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis // *Neurosci Biobehav Rev.* 1992. V.16. N.2. P.115–130.
114. Katayama Y., Nishiyama M., Shoji H. et al. CHD8 haploinsufficiency results in autistic-like phenotypes in mice // *Nature*. 2016. V.537. N.7622. P.675–679.
115. Kitraki E., Kremmyda O., Youlatos D., Alexis M., Kittas C. Spatial performance and corticosteroid receptor status in the 21-day restraint stress paradigm // *Ann N Y Acad Sci.* 2004. V.1018. P.323-327.
116. Knapman A., Kaltwasser S.F., Martins-de-Souza D. et al. Increased stress reactivity is associated with reduced

- hippocampal activity and neuronal integrity along with changes in energy metabolism // *Eur J Neurosci*. 2012. V.35. N.3. P.412-422.
117. Korte S.M., De Boer S.F. A robust animal model of state anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze // *Eur J Pharmacol*. 2003. V.463. N.1-3. P.163-175.
118. Kotrschal A., Lievens E. J. P., Dahlbom J. et al. Artificial selection on relative brain size reveals a positive genetic correlation between brain size and proactive personality in the guppy // *Evolution*. 2013. V. 68. P. 1139-1149.
119. Kribakaran S., Danese A., Bromis K., Kempton M.J., Gee D.G. Meta-analysis of Structural Magnetic Resonance Imaging Studies in Pediatric Posttraumatic Stress Disorder and Comparison With Related Conditions // *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*. 2020. V.5. N.1. P.23-34.
120. Kuleshkaya N., Voikar V. Assessment of Mouse Anxiety-Like Behavior in the Light-Dark Box and Open-Field Arena: Role of Equipment and Procedure // *Physiol Behav*. 2014. V.133. P.30-38.
121. Lakshminarasimhan H., Chattarji S. Stress leads to contrasting effects on the levels of brain derived neurotrophic factor in the hippocampus and amygdala // *PLoS One*. 2012. V.7. N.1. P.1-6.
122. Landgraf R., Kessler M.S., Bunck M. et al. Candidate genes of anxiety-related behavior in HAB/LAB rats and mice: focus on vasopressin and glyoxalase-I // *Neurosci Biobehav Rev*. 2007. V.31. N.1. P.89-102.
123. Laryea G., Schütz G., Muglia L.J. Disrupting hypothalamic glucocorticoid receptors causes HPA axis

- hyperactivity and excess adiposity // *Mol Endocrinol.* 2013. V.27. N.10. P.1655-1665.
124. Lee R.S., Sawa A. Environmental stressors and epigenetic control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis // *Neuroendocrinology.* 2014. V.100. N.4. P.278-287.
125. Lever C., Burton S., O'Keefe J. Rearing on hind legs, environmental novelty, and the hippocampal formation // *Rev Neurosci.* 2006. V.17. N.1-2. P.111-133.
126. Lu L., Wei L., Peirce J.L. et al. Using gene expression databases for classical trait QTL candidate gene discovery in the BXD recombinant inbred genetic reference population: mouse forebrain weight // *BMC Genomics.* 2008. V.9. P.1-12.
127. Luedke A.C., Boucher P.O., Niel L., Holmes M.M. Altered anxiety and defensive behaviors in Bax knockout mice // *Behav Brain Res.* 2013. V.239. P.115-120.
128. Marhounová L., Kotrschal A., Kverková K., Kolm N., Němec P. Artificial selection on brain size leads to matching changes in overall number of neurons // *Evolution.* 2019. V.73. P. 2003-2012.
129. Martinou J.C., Dubois-Dauphin M., Staple J.K. et al. Overexpression of BCL-2 in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia // *Neuron.* 1994. V.13. N.4. P.1017-1030.
130. Matsumoto M., Straub R.E., Marenco S. et al. The evolutionarily conserved G protein-coupled receptor SREB2/GPR85 influences brain size, behavior, and vulnerability to schizophrenia // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008. V.105. N.16. P.6133-6138.

131. McCall J.G., Al-Hasani R., Siuda E.R., Hong D.Y., Norris A.J., Ford C.P., Bruchas M.R. CRH Engagement of the Locus Coeruleus Noradrenergic System Mediates Stress-Induced Anxiety // *Neuron*. 2015. V.87. P. 605–620. (цит. по Myers et al., 2017).
132. McEwen B.S. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology // *Neuropsychopharmacology*. 2000. V.22. P.108 –124.
133. McEwen B.S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. // *Physiol Rev*. 2007. V.87. N.3. P.873–904.
134. McEwen B.S., Wingfield J.C. The concept of allostasis in biology and biomedicine // *Horm Behav*. 2003. V.43. N.1. P.2–15.
135. McEwen B.S., Bowles N.P., Gray J.D., Hill M.N., Hunter R.G., Karatsoreos I.N., Nasca C. Mechanisms of stress in the brain // *Nat. Publ. Group*. 2015. V.18. P.1353–1363.
136. McEwen B.S., Nasca C., Gray J.D. Stress Effects on Neuronal Structure: Hippocampus, Amygdala, and Prefrontal Cortex // *Neuropsychopharmacology*. 2016. V.41. N.1. P.3-23.
137. Mitra R., Sapolsky R.M. Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008. V.105. N.14. P.5573-5578.
138. Muglia L., Jacobson L., Dikkes P., Majzoub J.A. Corticotropin-releasing hormone deficiency reveals major fetal but not adult glucocorticoid need // *Nature*. 1995. V.373. N.6513. P.427-432.
139. Myers B., Scheimann J.R., Franco-Villanueva A., Herman J.P. Ascending mechanisms of stress integration: Implications for

- brainstem regulation of neuroendocrine and behavioral stress responses // *Neurosci Biobehav Rev.* 2017. V.74. P.366-375.
140. Naik R.R., Sotnikov S.V., Diepold R.P. et al. Polymorphism in Tmem132d regulates expression and anxiety-related behavior through binding of RNA polymerase II complex // *Transl Psychiatry.* 2018. V.8. N.1. P.1-18.
141. Ngoupaye G.T., Yassi F.B., Bahane D.A.N., Bum E.N. Combined corticosterone treatment and chronic restraint stress lead to depression associated with early cognitive deficits in mice // *Metab Brain Dis.* 2018. V.33. N.2. P.421-431.
142. Nguyen N.K., Keck M.E., Hetzenauer A. et al. Conditional CRF receptor 1 knockout mice show altered neuronal activation pattern to mild anxiogenic challenge // *Psychopharmacology (Berl).* 2006. V.188. N.3. P.374-385.
143. Parlato R., Otto C., Tuckermann J. et al. Conditional inactivation of glucocorticoid receptor gene in dopamine-beta-hydroxylase cells impairs chromaffin cell survival // *Endocrinology.* 2009. V.150. N.4. P.1775-1781.
144. Pavone P., Praticò A. D., Rizzo R., Corsello G., Ruggieri M., Parano E. et al. A clinical review on megalencephaly: a large brain as a possible sign of cerebral impairment // *Medicine.* 2017. V.96. N. 26. P.1-7.
145. Perepelkina O.V., Golibrodo M.A., Lilp I.G., Poletaeva I.I. Mice selected for large and small brain weight: The preservation of trait differences after the selection was discontinued // *Advances in Bioscience and Biotechnology.* 2013. V.4. P.1-8.
146. Perrine S.A., Eagle A.L., George S.A. et al. Severe, multimodal stress exposure induces PTSD-like characteristics in

- a mouse model of single prolonged stress // *Behav Brain Res.* 2016. V.303. P.228-237.
147. Persson A.S., Westman E., Wang F.H., Khan F.H., Spenger C., Lavebratt C. Kv1.1 null mice have enlarged hippocampus and ventral cortex // *BMC Neurosci.* 2007. V.8. N. 1. P. 1-6.
148. Petersson S., Sandberg Nordqvist A., Schalling M., Lavebratt C. The megencephaly mouse has disturbances in the insulin-like growth factor (IGF) system // *Brain Res Mol Brain Res.* 1999. V.72. N1. P.80-88.
149. Petersson S., Lavebratt C., Schalling M., Hökfelt T. Expression of cholecystokinin, enkephalin, galanin and neuropeptide Y is markedly changed in the brain of the megencephaly mouse // *Neuroscience.* 2000. V.100. N.2. P.297-317.
150. Petersson S., Persson A.S., Johansen J.E., Ingvar M., Nilsson J., Klement G., Århem P., Schalling M., Lavebratt C. Truncation of the Shaker-like voltage-gated potassium channel, Kv11, causes megencephaly // *Eur J Neurosci* 2003. V.18. P.3231-3240.
151. Pirozzi F., Nelson B., and Mirzaa G. From microcephaly to megalencephaly: determinants of brain size // *Dialogues Clin. Neurosci.* 2018. V.20. P. 267-282.
152. Pollock A., Bian S., Zhang C., Chen Z., Sun T. Growth of the developing cerebral cortex is controlled by microRNA-7 through the p53 pathway // *Cell Rep.* 2014. V.7. P.1184-1196.
153. Popken G.J., Hodge R.D., Ye P. et al. In vivo effects of insulin-like growth factor-I (IGF-I) on prenatal and early

- postnatal development of the central nervous system // *Eur J Neurosci*. 2004. V.19. N.8. P.2056-2068.
154. Porsolt R.D., Bertin A., Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants // *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 1977. V.229. N.2. P.327-336.
155. Prewitt C.M., Herman J.P. Anatomical interactions between the central amygdaloid nucleus and the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat: a dual tract-tracing analysis // *J Chem Neuroanat*. 1998. V.15. N.3. P.173-185.
156. Radley J.J. Toward a limbic cortical inhibitory network: implications for hypothalamic-pituitary-adrenal responses following chronic stress // *Front Behav Neurosci*. 2012. V.6. N.7. P.1-10.
157. Radley J.J., Arias C.M., Sawchenko P.E. Regional differentiation of the medial prefrontal cortex in regulating adaptive responses to acute emotional stress // *J Neurosci*. 2006. V.26. N.50. P.12967-12976.
158. Radley J.J., Sawchenko P.E. A common substrate for prefrontal and hippocampal inhibition of the neuroendocrine stress response // *J Neurosci*. 2011. V.31. N.26. P.9683-9695.
159. Rash B.G., Tomasi S., Lim H.D., Suh C.Y., Vaccarino F.M. Cortical gyrification induced by fibroblast growth factor 2 in the mouse brain // *J Neurosci*. 2013. V.33. N.26. P.10802-10814.
160. Reed J.C. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death // *J Cell Biol*. 1994. V.124. N.1-2. P.1-6.
161. Reppert S.M., Weaver D.R. Coordination of circadian timing in mammals *Nature*. 2002. V.418. N.6901. P.935-941. (цит. по Godoy et al., 2018).

162. Ring R.H. The central vasopressinergic system: examining the opportunities for psychiatric drug development // *Curr Pharm Des.* 2005. V.11. N.2. P.205-225.
163. Rondi-Reig L., Lemaigre Dubreuil Y., Martinou J.C., Delhaye-Bouchaud N., Caston J., Mariani J. Fear decrease in transgenic mice overexpressing bcl-2 in neurons // *Neuroreport.* 1997. V.8. N.11. P.2429-2432.
164. Rosen G.D., Pung C.J., Owens C.B. et al. Genetic modulation of striatal volume by loci on Chrs 6 and 17 in BXD recombinant inbred mice // *Genes Brain Behav.* 2009. V.8. N.3. P. 296-308.
165. Roy A., Skibo J., Kalume F. et al. Mouse models of human PIK3CA-related brain overgrowth have acutely treatable epilepsy // *Elife.* 2015. V.4. P.1-25.
166. Rozeboom A.M., Akil H., Seasholtz A.F. Mineralocorticoid receptor overexpression in forebrain decreases anxiety-like behavior and alters the stress response in mice // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007. V.104. N.11. P. 4688-4693.
167. Sachs B.D., Ni J.R., Caron M.G. Brain 5-HT deficiency increases stress vulnerability and impairs antidepressant responses following psychosocial stress // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015. V.112. N.8. P.2557-2562.
168. Salimov R.M. Different behavioral patterns related to alcohol use in rodents: A factor analysis // *Alcohol.* 1999. V.17. P.157-162.
169. Salmaso N., Stevens H.E., McNeill J. et al. Fibroblast Growth Factor 2 modulates hypothalamic pituitary axis activity and anxiety behavior through glucocorticoid receptors // *Biol Psychiatry.* 2016. V. 80. N.6. P.479-489.

170. Sapolsky R.M., Romero L.M., Munck A.U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions // *Endocr Rev.* 2000. V.21. N.1. P.55-89. (цит. по Gunnar, Quevedo, 2007)
171. Scheinman R.I., Gualberto A., Jewell C.M., Cidlowski J.A., Baldwin A.S.Jr. Characterization of mechanisms involved in transrepression of NF-kappa B by activated glucocorticoid receptors // *Mol Cell Biol.* 1995. V.15. N.2. P.943-953. (цит. по Tsigos, Chrousos, 2002).
172. Schoenfeld T.J., Gould E. Stress, stress hormones, and adult neurogenesis // *Exp Neurol.* 2012. V. 233. N.1. P.12-21.
173. Schwaber J.S., Kapp B.S., Higgins G.A., Rapp P.R. Amygdaloid and basal forebrain direct connections with the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus // *J Neurosci.* 1982. V.2. N.10. P.1424-1438. (цит. по Herman et al., 2016).
174. Sebrié C., Chabert C., Ledru A. et al. Increased dosage of DYRK1A and brain volumetric alterations in a YAC model of partial trisomy 21 // *Anat Rec (Hoboken).* 2008. V.291. N.3. P.254-262.
175. Selye H.A. Confusion and controversy in the stress field // *J Human Stress.* 1975. V.1. N.2. P.37-44.
176. Selye H.A. Stress and the general adaptation syndrome // *Br Med J.* 1950. V.4667. P.1383-1392.
177. Selye H.A. *Stress in Health and Disease.* Boston, Butterworth, 1976. 1300 p. (цит. по Fink, 2016).
178. Selye H.A. Syndrome produced by diverse nocuous agents // *Nature.* 1936. V.138. P.32. (цит. по Fink, 2016)

179. Shi L., Qalieh A., Lam M.M., Keil J.M., Kwan K.Y. Robust elimination of genome-damaged cells safeguards against brain somatic aneuploidy following *Kn1* deletion // *Nat Commun.* 2019. V.10. N.1. P.1-14.
180. Shu W., Cho J.Y., Jiang Y. et al. Altered ultrasonic vocalization in mice with a disruption in the *Foxp2* gene // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005. V.102. N.27. P.9643-9648.
181. Simm A., Klotz L.O. Stress and biological aging: A double-edged sword // *Z Gerontol Geriatr.* 2015. V.48. N.6. P.505-510.
182. Simmons N.E., Do H.M., Lipper M.H., Laws E.R.Jr. Cerebral atrophy in Cushing's disease // *Surg Neurol.* 2000. V. 53. N.1. P.72-76.
183. Smith G.W., Aubry J.M., Dellu F. et al. Corticotropin releasing factor receptor 1-deficient mice display decreased anxiety, impaired stress response, and aberrant neuroendocrine development // *Neuron.* 1998. V. 20. N.6. P.1093-1102.
184. Smoller J.W. The Genetics of Stress-Related Disorders: PTSD, Depression, and Anxiety Disorders // *Neuropsychopharmacology.* 2016. V.41. N.1. P.297-319.
185. Solomon M.B., Furay A.R., Jones K. et al. Deletion of forebrain glucocorticoid receptors impairs neuroendocrine stress responses and induces depression-like behavior in males but not females // *Neuroscience.* 2012. V.203. P.135-143.
186. Solomon M.B., Loftspring M., de Kloet A.D. et al. Neuroendocrine function after hypothalamic depletion of glucocorticoid receptors in male and female mice // *Endocrinology.* 2015. V.156. N.8. P.2843-2853.

187. Sterling P., Eyer J. Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. Handbook of Life Stress, Cognition and Health, edited by Fisher S, Reason J. New York: Wiley, 1988, P. 629-649 (цит. по McEwen, 2007).
188. Sturman O., Germain P.L., Bohacek J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test // Stress. 2018. V.21. N.5. P.443-452.
189. Subramanian L., Calcagnotto M.E., Paredes M.F. Cortical Malformations: Lessons in Human Brain Development // Front Cell Neurosci. 2020. V.13. P.1-17.
190. Suetterlin P., Hurley S., Mohan C. et al. Altered Neocortical Gene Expression, Brain Overgrowth and Functional Over-Connectivity in Chd8 Haploinsufficient Mice // Cereb Cortex. 2018. V.28. N.6. P.2192-2206.
191. Sugiyama N., Andersson S., Lathe R. et al. Spatiotemporal dynamics of the expression of estrogen receptors in the postnatal mouse brain // Mol Psychiatry. 2009. V.14. N.2. P.223-232.
192. Tanaka S., Young J.W., Halberstadt A.L., Masten V.L., Geyer M.A. Four factors underlying mouse behavior in an open field // Behav Brain Res. 2012. V.233. N.1. P.55-61.
193. Tanaka T., Serneo F.F., Higgins C., Gambello M.J., Wynshaw-Boris A., Gleeson J.G. Lis1 and doublecortin function with dynein to mediate coupling of the nucleus to the centrosome in neuronal migration // J Cell Biol. 2004. V.165. P.709-721.
194. Toyooka K., Shionoya A., Gambello M.J. et al. 14-3-3epsilon is important for neuronal migration by binding to NUDEL: a molecular explanation for Miller-Dieker syndrome // Nat Genet. 2003. V.34. N.3. P.274-285.

195. Tronche F., Kellendonk C., Kretz O. et al. Disruption of the glucocorticoid receptor gene in the nervous system results in reduced anxiety // *Nat Genet.* 1999. V.23. N.1. P.99-103.
196. Tsigos C., Chrousos G.P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress // *J Psychosom Res.* 2002. V.53. N.4. P.865-871.
197. Tulen J.H., Bruijn J.A., de Man K.J., van der Velden E., Pepplinkhuizen L., Man in 't Veld A.J. Anxiety and autonomic regulation in major depressive disorder: an exploratory study // *J Affect Disord.* 1996. V.40. N.1-2. P. 61-71. (цит. по van Bogaert MJ et al., 2006)
198. Ulrich-Lai Y.M., Figueiredo H.F., Ostrander M.M., Choi D.C., Engeland W.C., Herman J.P. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006. V. 29. N.5. P. 965-973. (цит. по Herman et al., 2016).
199. Ulrich-Lai Y.M., Herman J.P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses // *Nat Rev Neurosci.* 2009. V. 10. N.6. P.397-409.
200. Van Bogaert M.J., Groenink L., Oosting R.S., Westphal K.G., van der Gugten J., Olivier B. Mouse strain differences in autonomic responses to stress // *Genes Brain Behav.* 2006. V.5. N.2. P.139-149.
201. Van der Woude E., Groothuis J., Smid H.M. No gains for bigger brains: Functional and neuroanatomical consequences of relative brain size in a parasitic wasp // *J. Evol. Biol.* 2019. V. 32. P. 694-705.

202. Van der Woude E., Huigens M. E., & Smid, H. M. Differential effects of brain size on memory performance in parasitic wasps // *Anim. Behav.* 2018. V.141. P. 57-66.
203. Veenema A.H., Neumann I.D. Neurobiological mechanisms of aggression and stress coping: a comparative study in mouse and rat selection lines // *Brain Behav Evol.* 2007. V.70. N.4. P.274-285.
204. Viau V., Meaney M.J. The inhibitory effect of testosterone on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress is mediated by the medial preoptic area // *J Neurosci.* 1996. V.16. N.5. P.1866-1876. (цит. по Ulrich-Lai, Herman, 2009).
205. Wei Q., Fentress H.M., Hoversten M.T. et al. Early-life forebrain glucocorticoid receptor overexpression increases anxiety behavior and cocaine sensitization // *Biol Psychiatry.* 2012. V.71. N.3. P.224-231.
206. Wei Q., Lu X.Y., Liu L. et al. Glucocorticoid receptor overexpression in forebrain: a mouse model of increased emotional lability // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004. V.101. N.32. P.11851-11856.
207. Whirledge S., DeFranco D.B. Glucocorticoid Signaling in Health and Disease: Insights From Tissue-Specific GR Knockout Mice // *Endocrinology.* 2018. V.159. N.1. P.46-64.
208. Wimer C., Prater L. Some behavioral differences in mice genetically selected for high and low brain weight // *Psychol. Rep.* 1966. V.19. P. 675-681.
209. Wimer C., Roderick T.H., Wimer R.E. Supplementary report: behavioral differences in mice genetically selected for brain weight // *Psychol. Rep.* 1969. V.25. P. 363-368.

210. Wong M.L., Licinio J., Pasternak K.I., Gold P.W. Localization of corticotropin-releasing hormone (CRH) receptor mRNA in adult rat brain by in situ hybridization histochemistry // *Endocrinology*.1994. V.135. P. 2275 - 2278. (цит. по Tsigos, Chrousos, 2002)
211. Wynshaw-Boris A. Lissencephaly and LIS1: insights into the molecular mechanisms of neuronal migration and development // *Clin Genet*. 2007. V.72. N.4. P. 296-304.
212. Wynshaw-Boris A., Pramparo T., Youn Y.H., Hirotsune S. Lissencephaly: mechanistic insights from animal models and potential therapeutic strategies // *Semin Cell Dev Biol*. 2010. V.21. N.8. P. 823-830.
213. Xu M., Ouyang Q., Gong J. et al. Mixed Neurodevelopmental and Neurodegenerative Pathology in Nhe6-Null Mouse Model of Christianson Syndrome // *eNeuro*. 2018. V.4. N.6. P. 1-27.
214. Xu P., Wang K., Lu C. et al. Effects of the chronic restraint stress induced depression on reward-related learning in rats // *Behav Brain Res*. 2017. V. 321. P.185-192.
215. Xu S., Liu Y., Pu J. et al. Chronic Stress in a Rat Model of Depression Disturbs the Glutamine-Glutamate-GABA Cycle in the Striatum, Hippocampus, and Cerebellum // *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2020. V.16. P.557-570.
216. Yamamoto M., Ben-Shlomo A., Kameda H. et al. Somatostatin receptor subtype 5 modifies hypothalamic-pituitary-adrenal axis stress function // *JCI Insight*. 2018. V.3. N.19. P.1-17.
217. Yang S.B., Mclemore K.D., Tasic B., Luo L., Jan Y.N., Jan L.Y. Kv1.1-dependent control of hippocampal neuron number as

- revealed by mosaic analysis with double markers // *J Physiol.* 2012. V.590. N.11. P.2645-2658.
218. Zanjani H.S., Vogel M.W., Delhaye-Bouchaud N., Martinou J.C., Mariani J. Increased cerebellar Purkinje cell numbers in mice overexpressing a human bcl-2 transgene // *J Comp Neurol.* 1996. V.374. N.3. P. 332-341.
219. Zanjani H.S., Vogel M.W., Delhaye-Bouchaud N., Martinou J.C., Mariani J. Increased inferior olivary neuron and cerebellar granule cell numbers in transgenic mice overexpressing the human Bcl-2 gene // *J Neurobiol.* 1997. V.32. N.5. P.502-516.
220. Zaqout S., Blaesius K., Wu Y.J. et al. Altered inhibition and excitation in neocortical circuits in congenital microcephaly // *Neurobiol Dis.* 2019. V.129. P.130-143.
221. Zhang L., Mubarak T., Chen Y., Lee T., Pollock A., Sun T. Counter-Balance Between Gli3 and miR-7 Is Required for Proper Morphogenesis and Size Control of the Mouse Brain // *Front Cell Neurosci.* 2018. V.12. P.1-14.
222. Zhang W., Ma L., Yang M. et al. Cerebral organoid and mouse models reveal a RAB39b-PI3K-mTOR pathway-dependent dysregulation of cortical development leading to macrocephaly/autism phenotypes // *Genes Dev.* 2020. V.34. N.7-8. P.580-597.
223. Zhu S., Shi R., Wang J., Wang J.F., Li X.M. Unpredictable chronic mild stress not chronic restraint stress induces depressive behaviours in mice // *Neuroreport.* 2014. V.25. N.14. P.1151-1155.

224. Zimprich A., Garrett L., Deussing J.M. et al. A robust and reliable non-invasive test for stress responsivity in mice // Front Behav Neurosci. 2014. V.8. P.1-12.
225. Zorn J.V., Schür R.R., Boks M.P., Kahn R.S., Joëls M., Vinkers C.H. Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis // Psychoneuroendocrinology. 2017. V.77. P. 25-36.