

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. И.П.
ПАВЛОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

Сусорова Мария Андреевна

**ВЛИЯНИЕ NO НА АКТИВНОСТЬ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ
СИСТЕМЫ МЕДИАЛЬНОЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ ПРИ
ФОРМИРОВАНИИ И ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНОЙ
РЕАКЦИИ СТРАХА**

Специальность 1.5.5 – Физиология человека и животных

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
доцент
Саульская Н. Б.

Санкт-Петербург 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	3
ВВЕДЕНИЕ.....	5
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1. Медиальная префронтальная кора.....	10
1.1.2 Функции mPFC.....	16
1.1.3. Участие mPFC в механизмах страха.....	16
1.1.4. Роль mPFC в генерализации страха	21
1.1.5. Нитрергическая система медиальной префронтальной коры	24
1.2. Серотонин. Общая характеристика.	26
1.2.1. Классификация серотониновых нейронов.....	28
1.2.2. Нейрохимическое разнообразие серотониновых нейронов	29
1.2.3. Рецепторы серотонина	30
1.2.4. Функции серотонина и его роль в патогенезе психических расстройств.....	34
1.2.4.1. Роль серотонина в агрессивном поведении	35
1.2.4.2. Роль серотонина в тревожном поведении.....	36
1.2.4.3. Роль серотонина в патогенезе депрессии	37
1.2.4.4. Роль серотонина в механизмах страха.....	39
1.3. Взаимодействие нитрергической и серотонинергической нейромодуляторных систем в мозге	45
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	47
2.1. Приживленный внутримозговой микродиализ	47
2.2. Экспериментальные животные.....	48
2.3. Имплантация диализных канюль в mPFC	49
2.4. Микродиализные эксперименты.....	49
2.5. Анализ диализата на содержание внеклеточного серотонина	54
2.6. Морфологический контроль	55
2.7 Статистическая обработка данных	56
3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	56
3.1. Влияние активации и блокады нитрергической системы mPFC на уровень серотонина в этой области коры	56
Обсуждение результатов главы.....	62
3.2. Влияние блокады и активации нитрергической системы mPFC в ходе выработки УРС на уровень внеклеточного серотонина в этой области, а также на выработку и генерализацию УРС	63
Обсуждение результатов главы.....	75
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	78
ВЫВОДЫ.....	79
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	80

Список сокращений

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИСМЖ – искусственная спинномозговая жидкость
рГЦ – растворимая гуанилатцилаза
СИОЗС – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина
УРС – условнорефлекторная реакция страха
цАМФ – циклический аденоzinмонофосфат
цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
ЦНС – центральная нервная система
ACC – передняя цингулярная кора
AGm – медиальная агранулярная кора
BDNF – нейротрофический фактор мозга
BLA – базолатеральная амигдала
CeA – центральное ядро амигдалы
CeM – латеральный отдел центрального ядра амигдалы
CLA – ограда
CS+ – условный сигнал
CS- – дифференцировочный сигнал
DEA – диэтиламин ноноат, донор NO
DP – дорсальная педункулярная кора
DR – дорсальное ядро шва
FLU – флуоксетин
Gad – глутаматдекарбоксилаза
5-HTP – 5-гидрокситриптофан
IL – инфразимбическая кора
ITC – вставочные клетки
LAT – транспортер крупных нейтральных аминокислот
MAO_A – моноаминооксидаза А
MnR – медианное ядро шва
mPFC – медиальная префронтальная кора
NA – N-нитро-L-аргинин
NMDA – N-метил-D-аспарагиновая кислота
nNOS – нейронная NO-синтаза

NO – оксид азота
NOS – NO-синтаза
NPLA – N ω -пропил-L-аргинин
PAG – околоводопроводное серое вещество
PFC – префронтальная кора
PL – прелимбическая кора
PVT- паравентрикулярное ядро таламуса
RE – реуниальное ядро таламуса
SERT – транспортер серотонина
SNAP – S-нитрозо-N-пенициламин
STR – стриатум
THAL – таламус
Tph – триптофангидроксилаза
US – безусловный сигнал
Vglut – везикулярный переносчик глутамата
vHPC – вентральный гиппокамп
VMAT – транспортерmonoаминов
VTA – вентральная область покрышки

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Изучение новых нейрофизиологических механизмов регуляции страха является актуальной проблемой современной нейрофизиологии, поскольку нарушения такой регуляции характеризует ряд социально значимых заболеваний (Kessler et al. 2005). Новым быстроразвивающимся направлением в рамках этой проблемы является исследование нейромедиаторных и структурных механизмов генерализации страха, феномена, выражющегося в проявлении страха не только в опасных, но и в безопасных обстоятельствах. Умеренная генерализация страха необходима и носит адаптивный характер (Sun et al. 2023), поскольку позволяет использовать ранее полученный негативный опыт в сходных ситуациях, расширяя сферу его применения (Fraunfelter et al. 2022; Webler et al. 2021). Однако чрезмерная и стойкая генерализация страха дисфункциональна и занимает одно из центральных мест в симптоматике различных психических расстройств, таких как посттравматическое стрессовое расстройство, обсессивно-компульсивное расстройство, генерализованное тревожное расстройство, разного рода фобии и др. (Fraunfelter et al. 2022). Все это определяют актуальность поиска ранее неизвестных путей влияния на генерализацию страха.

Основной моделью изучения памяти об аверсивных событиях, лежащей в основе страха (fear memory), является условная реакция страха (УРС, fear conditioning). Исследования, выполненные с использованием этой модели, показали, что за формирование и проявления УРС отвечает сеть взаимосвязанных структур головного мозга, которые вместе образуют внутримозговую систему страха (fear circuit) (Tovote et al. 2015). Одной из ключевых областей этой системы, наряду с гиппокампальной формацией, амигдалярным комплексом ядер и околоводопроводным серым веществом, является медиальная префронтальная кора (mPFC) (Dixsaut, Gräff 2021; Sung, Kaang 2022). Продемонстрировано, что mPFC играет важную роль в формировании некоторых форм УРС (УРС на фоновые обстановочные сигналы, следовые и отсроченные УРС) (Gilmartin et al. 2014; Gilmartin, Helmstetter 2010), в поддержании и угашении УРС (Burgos-Robles et al. 2009; Kim et al. 2013), а также участвует в контроле генерализации УРС (Rozeske et al. 2018; Sangha et al. 2020; Саульская 2018).

Литературные и наши данные свидетельствуют, что mPFC регулирует формирование и проявления УРС при участии серотониновой системы (Almada et al. 2015; León et al. 2017; Саульская и др. 2020). Кроме того, недавние исследования нашей группы продемонстрировали влияние серотониновых сигналов mPFC на генерализацию УРС, поскольку естественное или фармакологическое усиление выброса серотонина в mPFC во

время выработки УРС приводит к усилению генерализации УРС через сутки (Саульская, Марчук 2018; Саульская, Марчук 2019). Вместе с тем, пути локальной регуляции таких серотониновых сигналов в mPFC, контролирующих генерализацию УРС, исследованы недостаточно.

Одной из систем, которая может оказывать влияние на активность серотониновой системы mPFC, является нитрергическая система. На возможность такого взаимодействия указывают данные о совместной локализации нейронной NO-синтазы (nNOS) и маркеров серотониновой нейропередачи – белков Trh (триптофангидроксилаза, фермент синтеза серотонина) и SERT (транспортер серотонина, обеспечивающий его обратный захват) в серотонинергических волокнах, приходящих из ядер шва в mPFC (Gartside et al. 2020; Lu et al. 2010). Кроме того, ранее моими коллегами было показано, что выработка УРС усиливает активность нитрергической системы mPFC, и уровень такой активации влияет на степень первоначальной генерализации УРС (Саульская, Судоргина 2015). Эти данные позволяют предполагать, что в mPFC существует локальное NO-серотониновое взаимодействие, которое, возможно, обеспечивает согласованное участие серотониновой и нитрергической систем этой области в контроле генерализации УРС

В литературе есть сведения о влиянии NO на выброс серотонина в ряде структур головного мозга (Segieth et al. 2001; Smith, Whitton 2000; Trabace, Kendrick 2000; Wegener et al. 2000), а также о роли таких влияний в тревожных и депрессивных расстройствах (Sadeghi et al. 2023; Sun et al. 2021; Sun et al. 2022) и в агрессивном поведении (Правикова 2024, Chiavegatto et al. 2001). Кроме того, есть данные об изменениях выброса и метаболизма серотонина во фронтальной коре при воздействиях на нитрергическую передачу в ядрах шва или мозга в целом (Ghasemi et al. 2019). Но существование локального NO-серотонинового взаимодействия в mPFC, а также его возможный вклад в процессы формирования и генерализации УРС остается неизученным.

Цель работы - исследование участия локальных нитрергических сигналов mPFC в регуляции активности серотониновой системы этой области, оцениваемой по уровню внеклеточного серотонина, а также изучение возможного вклада таких локальных NO-серотониновых влияний в mPFC в процессы формирования и генерализации условнорефлекторной реакции страха (модель страха).

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе введений в mPFC субстрата NO-синтазы аргинина (0.1, 1 и 5 мМ).

2. Исследовать изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC, вызваемые введениями в mPFC донора NO – диэтиламин ноноата (DEA, 0.1 – 3 мМ).
3. Изучить влияние введений в mPFC ингибитора NO-синтазы – N-нитро-L-аргинина (NA, 0.5 мМ) на фоновый уровень внеклеточного серотонина mPFC, а также на подъём этого уровня, вызванный введениями в mPFC флуоксетина (10 мкМ) – селективного ингибитора обратного захвата серотонина.
4. Оценить влияние введений в mPFC селективного ингибитора нейронной NO-синтазы (nNOS) – N ω -пропил-L-аргинина (NPLA, 2 мМ) на выброс серотонина в mPFC, вызываемый выработкой УРС, а также на последующую генерализацию этой условнорефлекторной реакции.
5. Исследовать влияние введений в mPFC ингибитора NOS – N-нитро-L-аргинина (NA, 0.5 мМ) на выброс серотонина в mPFC, вызываемый формированием УРС, а также на ее последующую генерализацию.
6. Изучить влияние введений в mPFC во время выработки УРС донора NO (DEA, 1 мМ) на выброс серотонина в mPFC, вызываемый выработкой УРС, а также на последующую генерализацию этой условнорефлекторной реакции.

Научная новизна результатов. В работе впервые показаны влияния локальных эндогенных и экзогенных нитрергических сигналов mPFC на активность серотониновой системы этой области и впервые продемонстрирован возможный вклад таких влияний в регуляцию генерализации УРС. А именно, получены ранее неизвестные данные, демонстрирующие, что эндогенная активация нитрергической системы mPFC локальными введениями предшественника NO – аргинина (0.1мМ, 1 мМ, 5 мМ) увеличивает уровень внеклеточного серотонина в mPFC, и этот эффект является дозозависимым в диапазоне концентраций аргинина 0.1мМ –1 мМ. Впервые установлено, что введения в mPFC NA, ингибитора NO-синтазы (0.5 мМ) задерживают и ослабляют подъем уровня внеклеточного серотонина в mPFC, вызываемый локальным введением ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина. Впервые показаны тормозные влияния блокады нитрергической передачи mPFC локальными введениями NA (0.5 мМ) и NPLA (2 мМ) на базальный выброс серотонина в этой области коры, оцениваемый по изменениям уровня внеклеточного серотонина. Получены новые данные, что активация нитрергической системы mPFC локальными введениями донора NO – диэтиламин ноноата (DEA) в концентрациях 0.1, 0.5 и 1 мМ приводит к дозозависимому повышению уровня внеклеточного серотонина в mPFC в первые 15 мин введения препарата с последующим постепенным снижением этого

показателя при введении 1 мМ DEA, а введение 3 мМ DEA вызывает лишь кратковременную активацию выброса серотонина в mPFC с быстрым падением этого показателя ниже фоновых значений уже через 15 мин после начала введения. Впервые установлено, что введение блокаторов nNOS и NOS (NPLA, 2 мМ и NA, 0,5 мМ) во время выработки УРС снижает выброс серотонина в mPFC, вызываемый выработкой УРС, и уменьшает генерализацию УРС через сутки после введений препаратов, т.е. способствует быстрому угасанию генерализованных проявлений страха. Получены ранее неизвестные факты, что длительная экзогенная нитрергическая стимуляция mPFC введениями в эту область донора NO DEA (1 мМ) приводит через 60 мин после начала введения к торможению функционального выброса серотонина в mPFC, вызываемого выработкой УРС и уменьшает через сутки генерализацию УРС.

Теоретическое и практическое значение работы. Представленная работа выполнена в русле одной из фундаментальных проблем современной нейрофизиологии, связанной с исследованием нейрохимического обеспечения и структурных механизмов формирования и генерализации негативных эмоциональных состояний. Впервые полученные в ней данные об активационных влияниях эндогенного NO в mPFC на выброс серотонина в этой области расширяют имеющиеся представления о процессах локальной регуляции серотониновой нейротрансмиссии в mPFC, демонстрируя новый путь такой регуляции, основанный на локальном NO-серотониновом взаимодействии. Данные, свидетельствующие, что этот механизм контролирует согласованные изменения активностей серотониновой и нитрергической систем этой области при формировании УРС и может вносить вклад в ее генерализацию, важны для понимания процессов, лежащих в основе генерализации реакций страха в норме, и могут быть полезны при разработке подходов коррекции генерализованного страха при психопатологии. Результаты, демонстрирующие, что введения ингибиторов NOS и nNOS в mPFC способствуют быстрому угасанию генерализованных проявлений УРС, необходимо учитывать при фармакологическом использовании этих препаратов.

Положения, выносимые на защиту

1. Эндогенный NO модулирует активность серотониновой системы mPFC, оказывая активационные влияния на базальный выброс серотонина в этой области. Такие влияния выражаются в снижении уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ответ на локальные введения ингибиторов NO-синтазы, а также в дозозависимом увеличении этого показателя при введении в mPFC аргинина – субстрата NO-

синтазы. Локальная экзогенная нитрергическая стимуляция mPFC введением в эту область донора NO – DEA воспроизводит эффекты эндогенной нитрергической стимуляции этой области в начале введения препарата, оказывая дозозависимое активационное влияние на выброс серотонина в mPFC.

2. В ходе выработки УРС эндогенный NO нейронного происхождения оказывает активационные влияния на функциональный выброс серотонина в mPFC, вызываемый выработкой УРС, и усиливает через сутки генерализацию этой условнорефлекторной реакции, возможно, за счет активации серотониновой нейротрансмиссии в mPFC.

Личный вклад автора. Научные результаты, представленные в работе, получены автором самостоятельно или с его личным участием. Автор самостоятельно проводил операции по имплантации диализной канюли и хроматографический анализ диализата на содержание серотонина, участвовал в проведении поведенческих экспериментов, сочетавшихся с микродиализом, в морфологических исследованиях по определению положения канюли, в статистической обработке данных, обсуждении результатов и написании статей.

Апробация работы. Основные результаты работы были доложены на XXIV съезде физиологического общества им. И. П. Павлова (Санкт-Петербург 2023), всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология» (Санкт-Петербург 2019, 2021, 2022, 2023) XXVIII, XXIX, XXXI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва 2021, 2022, 2024), XXVII, XXIX, XXX Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины» (Санкт-Петербург 2021, 2023, 2024), XXV, XXVI, XXVII научной школе-конференции молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии (Москва 2021, 2022, 2023), XXVI, XXVII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург 2023, 2024).

Публикации. По теме работы опубликовано 20 научных работ: 3 статьи в журналах списка ВАК, 1 статья в журнале, индексируемом в РИНЦ и 16 тезисов.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания использовавшихся в ходе исследования методов, результатов работы, а также их обсуждения, и завершается перечислением выводов и списком литературы. Диссертация

изложена на 111 страницах печатного текста, включает 28 рисунков, 1 таблицу и 1 схему. Список литературы содержит 379 источников.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Медиальная префронтальная кора

Медиальная префронтальная кора (mPFC) является частью префронтальной коры (PFC), выделенной на основе её реципрокных связей с медиодорсальным ядром таламуса (Leonard 1969, 2016). Данное определение было дано для участка коры приматов, однако в настоящее время является общепринятой точка зрения, что некоторые области PFC грызунов гомологичны определённым субрегионам PFC приматов (Laubach et al. 2018). Критерии этой гомологии основаны на цитоархитектонике, паттернах связей с другими областями, электрофизиологических свойствах, экспрессии белков и анализе изменений поведения после повреждения PFC (Hoover, Vertes 2007; Öngür, Price 2000; Vogt, Paxinos 2014).

PFC крысы состоит из трёх основных частей: медиальной, латеральной и орбитальной, в каждой из которых также выделяют несколько областей (Öngür, Price 2000). В частности, медиальная префронтальная кора (mPFC) состоит из следующих цитоархитектонически различных областей: дорсомедиальной части и вентромедиальной части. Дорсомедиальная кора включает медиальную агранулярную (AGm и переднюю цингулярную кору (ACC) (Heidbreder, Groenewegen 2003; Öngür, Price 2000), а вентромедиальная – прелимбическую (PL) и инфралимбическую (IL) кору (Yan, Rein 2021). Кроме того, в состав mPFC также включают дорсальную педункулярную кору, которая расположена на вентральной границе вентромедиальной PFC (Akhter et al. 2014).

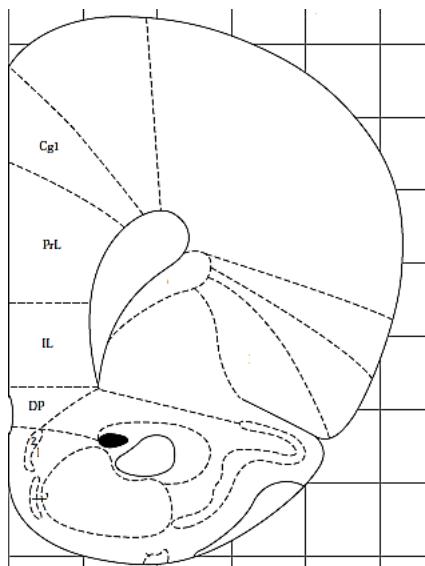


Рисунок 2. Схематическое изображение фронтального среза мозга крысы с обозначением областей mPFC. Cg1 – поясная кора; IL – инфрагиппокампальная кора; PL – прелимбическая кора, DP – дорсальная педункулярная кора. (Paxinos and Watson 1997).

Клеточная организация mPFC грызунов подчиняется общим правилам строения неокортекса, т. е. имеет слоистую структуру. Выделяют шесть основных слоёв (L1-L6) кортикальных нейронов. Однако, отличительной особенностью mPFC грызунов является то, что она полностью агранулярна и не имеет выделенного слоя L4, который является основным входным слоем в коре приматов. Вместо него входные сигналы из подкорковых и корковых областей получают как глубокие, так и поверхностные слои коры (Anastasiades, Carter 2021; Wang et al. 2018).

В mPFC около 80% популяции составляют глутаматергические пирамидные нейроны, которые интегрируют кортикальные и таламические сигналы и проецируются главным образом в подкорковые области (Celada et al. 2001). Среди пирамидных нейронов mPFC крыс идентифицировано более 10 подтипов (Van Aerde, Feldmeyer 2015; Song, Moyer 2018). В частности, авторы работы (Van Aerde, Feldmeyer 2015) на mPFC крысы методами патч-кламп и внутриклеточного окрашивания показали, что пирамидные нейроны mPFC можно классифицировать на основе их электрофизиологических свойств и дендритной морфологии. Например, обнаружено, что пирамидные нейроны слоя L2 обладают широкими дендритными полями по сравнению с нейронами слоёв L3 и L5 и слабо реагируют на гиперполяризующий ток. А слой L3 содержит уникальные для всей mPFC нейроны, которые отвечают высокой спайковой активностью в ответ на средние значения тока (Van Aerde, Feldmeyer 2015).

ГАМКергические интернейроны mPFC составляют 10–20% популяции нейронов mPFC и обеспечивают прямое торможение близлежащих пирамидных нейронов и интернейронов (DeFelipe 1997; Зайцев 2013). К разным участкам мембранны одних и тех же

клеток коры приходят афференты как от пирамидных, так и от ГАМКергических интернейронов, часто обнаруживаемые на одном уровне дендритного дерева (Yang et al. 2021).

ГАМКергические интернейроны могут быть классифицированы по экспрессии определенных белков: кальбиндина, парвальбумина и соматостатина (DeFelipe 1997; Kubota et al. 2011). В неокортике наиболее распространенными подтипами являются интернейроны, экспрессирующие парвальбумин и соматостатин (Kepcs, Fishell 2014; Markram et al. 2004). В то время как парвальбуминовые интернейроны осуществляют контроль над интеграцией информации, образуя синапсы на soma нейрона, соматостатиновые интернейроны проецируются преимущественно на дендритах нейрона (Kepcs, Fishell 2014; Tao et al. 2021).

Известно, что ГАМКергические нейроны экспрессируют, помимо ГАМК, ряд других нейромедиаторов. Так, одна из субпопуляций ГАМКергических интернейронов mPFC крысы содержит нейронную форму NO-синтазы – фермета, катализирующего синтез NO (Gabbott, Bacon 1995).

Помимо нейрохимических различий, интернейроны коры отличаются друг от друга и электрофизиологически: среди них выделяют, например, быстроразряжающиеся нейроны, регулярно разряжающиеся и залповые (Markram et al. 2004).

1.1.1. Основные афферентные и эфферентные проекции mPFC

mPFC получает сигналы от ряда структур мозга, основными из которых являются некоторые корковые области, таламические ядра и лимбические структуры (рис.2) (Vertes 2004, 2006). Информация, обработанная mPFC, передается в подкорковые области через популяции проекционных пирамидных нейронов, расположенных в основном в глубоких слоях L5 и L6 коры (DeFelipe 1997)

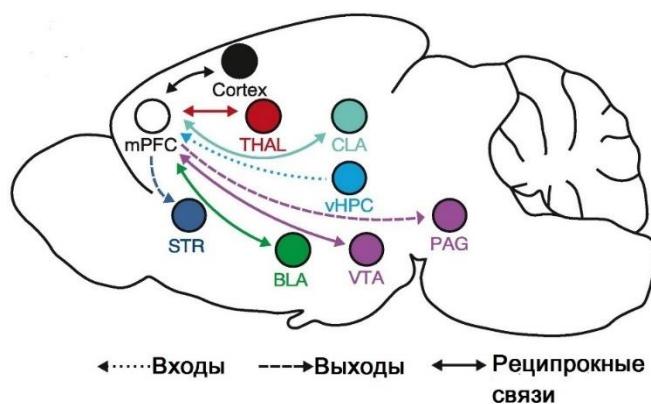


Рисунок 2. Ключевые области мозга грызунов, взаимодействующие с mPFC. BLA – базолатеральная амигдала; CLA – ограда; PAG – околоводопроводное серое вещество; STR – стриатум; THAL – таламус; vHPC – вентральный гиппокамп; VTA – вентральная область покрышки (Anastasiades and Carter 2021).

Хотя некоторые проекции mPFC имеют односторонний характер, большинство из них являются реципрокными, что позволяет mPFC выполнять свои функции, постоянно осуществляя контроль над нейронной активностью проекционных областей (Artigas 2010; Miller, Cohen 2001).

Известно, что mPFC взаимодействует с такими областями мозга как гиппокампальная формация, комплекс ядер амигдалы, дорсальное и медианное ядра шва, латеральный гипоталамус, околоводопроводное серое вещество, ядро ложа концевой пластиинки, вентральная покрышка, переднее обонятельное ядро, некоторые неокортикальные поля (моторная, соматосенсорная и зрительная кора), дорсолатеральный стриатум, прилежащее ядро, ретикулярная формация моста и продолговатого мозга и др. (Sesack et al. 1989). Кроме того, морфологические связи mPFC с рядом структур мозга обеспечивают её участие в работе внутримозговой системы страха. Важнейшими из этих структур являются базолатеральное ядро амигдалы (BLA), гиппокампальная формация, энторинальная и соматосенсорная кора, медиодорсальное ядро таламуса,monoаминергические ядра ствола мозга, холинергические центры базального переднего мозга и околоводопроводное серое вещество (Bergstrom 2016).

Разделение mPFC на дорсомедиальный и вентромедиальный отделы обусловлено, в первую очередь, их проекционной разобщенностью: дорсомедиальная префронтальная кора (AGm и ACC) в наибольшей степени связана с сенсомоторными областями коры, в то время как вентромедиальная префронтальная кора (PL и IL) – с лимбическими отделами мозга (Vertes 2004a).

Так, IL и PL соединены с амигдалой реципрокными проекциями, при этом такие проекции не всегда являются прямыми. Волокна, идущие из BLA передают информацию об эмоциональной значимости сенсорных стимулов в mPFC, активируя или ингибируя нейронную активность mPFC, которая, в свою очередь, отправляет обратные проекции к ядрам амигдалы, контролируя эмоциональные процессы (Cherian et al. 2016; Sotres-Bayon et al. 2012).

В свою очередь mPFC, а именно IL, посылает глутаматергические проекции к вставочным клеткам (intercollated cells, ITC) (Berretta et al. 2005; Sotres-Bayon, Quirk 2010), которые представляют собой кластеры ГАМКергических нейронов, расположенных на границе между BLA и центральным ядром амигдалы (CeA) и обеспечивающих прямое торможение ядер амигдалы (Asede et al. 2022; Duvarci and Pare 2014). Кроме того, IL проецируется к латеральному отделу центрального ядра амигдалы (CeM), также состоящего из ГАМКергических нейронов. Такие тормозные корково-амигдалярные влияния играют

важную роль в регуляции тревожного поведения и страха, а также в угашении памяти о страхе (Bloodgood et al. 2018; Cho 2013; Sotres-Bayon 2004).

Проекции из PL направляются к базальной амигдале (BA) (Sotres-Bayon, Quirk 2010) и, напротив, обеспечивают поддержание реакции страха (Burgos-Robles et al. 2009). В частности, известно, что активность PL коррелирует с выражением условного страха (Burgos-Robles et al. 2009), а фармакологическая инактивация PL предотвращает его проявления (Corcoran and Quirk 2007).

Ещё одной лимбической структурой, имеющей тесные связи (как прямые, так и опосредованные другими областями) с mPFC является гиппокампальная формация. Существует три основных пути, соединяющих mPFC и гиппокамп. Первый из них – прямая проекция от центрального гиппокампа к различным областям PFC (включая IL и PL), обеспечивающая непосредственный доступ PFC к информации, обрабатываемой центральным гиппокампом (Sotres-Bayon, Quirk 2010). Эта информация касается контекста, в котором происходят текущие события и не включает в себя подробных деталей окружающей обстановки (Komorowski et al. 2013; Royer et al. 2010).

Другие два пути mPFC-гиппокамп являются двунаправленными. Один из них – корковый – пролегает через периренальную и энторинальную кору (Agster, Burwell 2009; Apergis-Schoute et al. 2006), опосредуя обработку информации об объектах и событиях. Второй путь проходит через таламус (ядро reunions, RE) (Vertes 2004a, 2006) и, как полагают, обеспечивает синхронизацию активности PFC и областей гиппокампа (Eichenbaum, Eichenbaum 2017; Komorowski et al. 2013), а также играет ключевую роль в процессах консолидации памяти (Goshen et al. 2011; Latchoumane et al. 2017; Maingret et al. 2016).

В соответствии с этим показано, что RE и проекции mPFC-RE необходимы для кодирования и извлечения воспоминаний об угасании УРС на звуковые и обстановочные сигналы (Ramanathan, Jin, et al. 2018; Ramanathan, Ressler, et al. 2018). Так, инактивация RE ухудшает точность воспоминаний о страхе на обстановку (Ramanathan, Ressler, et al. 2018; Xu and Südhof 2013a) и улучшает память о страхе после процедуры угашения (Totty et al. 2023).

Таким образом, связь mPFC-гиппокамп служит для интеграции когнитивной и эмоциональной информации, необходимой для реализации адаптивного поведения (Bast 2007; Vertes 2006), а также обслуживает процессы консолидации памяти (Goshen et al. 2011; Restivo et al. 2009).

Помимо проекций к ядру RE, mPFC имеет обширные реципрокные связи и с другими ядрами таламуса. А именно, центральная mPFC (IL, PL и центральная ACC) проецируются

преимущественно на медиальные структуры таламуса, в то время как проекции дорсальной mPFC (AGm и дорсальная ACC) распределяются по более широкой области таламуса (интрапирамидные, вентральные и латеральные ядра). PL и IL, в свою очередь, также получают входной сигнал от медиодорсального ядра таламуса, который усиливается в течение нескольких дней после процедуры угашения страха (Hugues, Garcia 2007).

В отличие от большинства корковых регионов mPFC реципрокно связана с дорсальным (DR) и медианным (MnR) ядрами шва: mPFC не только получает плотную иннервацию (в том числе и серотонинергическую) от ядер шва, но и отправляет к ним обратные проекции (Souza et al. 2022).

На пирамидных и ГАМКергических нейронах mPFC в больших количествах присутствуют рецепторы 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A}, которые оказывают противоположные эффекты (тормозные и активационные) на возбудимость префронтальных нейронов (Amargós-Bosch et al. 2004; Santana, Artigas 2017). Серотонинергические сигналы, приходящие из DR и MnR, действуя на различные подтипы серотониновых рецепторов mPFC, могут регулировать активность этой корковой области. При этом определенные подобласти mPFC также могут осуществлять нисходящий контроль над восходящими модуляторными системами, посылая проекции к DR и MnR (Martín-Ruiz et al. 2001). Эти возвратные проекции mPFC к ядрам шва оканчиваются преимущественно на ГАМКергических интернейронах DR, которые в свою очередь образуют синапсы с серотонинергическими нейронами. В соответствии с этим показано, что электрическая стимуляция IL приводит к ингибированию активности серотониновых нейронов DR (Hajós et al. 1998). Таким образом, описанное взаимодействие образует "петлю" между mPFC и серотиновыми нейронами ствола мозга, реализуя их взаимное влияние друг на друга.

Применение имmunогистологических, электрофизиологических и ряда других методов позволило установить, что в серотонинергических проекциях ядер шва к mPFC серотонин соэкспрессируется с другими нейрохимически активными молекулами – медиаторами и нейропептидами (Okaty et al. 2019). В частности, иммуногистохимические исследования с использованием антител к nNOS показали наличие этого фермента в Трh-содержащих нейронах DR и MnR (Lu et al. 2010b; Wang et al. 1995; Xu, Hökfelt 1997), а в исследовании (Chanrion et al. 2007) показана физическая связь между nNOS и белками-транспортерами серотонина. Эти литературные данные указывают на возможность взаимодействия NO и серотонина как в самих нейронах ядер шва, так и в их проекционных областях.

1.1.2 Функции mPFC

В основе исполнительных функций mPFC лежит её уникальный набор в основном реципрокных связей с сенсорными/моторными областями коры, лимбическими структурами и рядом других отделов мозга. mPFC участвует в облуживании широкого спектра когнитивных функций высшего порядка, таких как внимание (Biró et al. 2019), рабочая память (Yang et al. 2014), гибкость поведения (Marton et al. 2018; Spellman et al. 2021), в том числе и социального (Franklin et al. 2017), оценка рисков (van Holstein and Floresco 2019), принятие решений (Diehl and Redish 2023), управление импульсивным поведением (Narayanan et al. 2006), а также с контролем эмоциональных процессов. Кроме того, эта область осуществляет контроль над висцеральными функциями организма, например, артериальным давлением и частотой пульса (Александров и др. 2022; Александров и др 2021; Resstel et al. 2004; Verberne et al. 1988). В обзоре (Dalley et al. 2004) авторы описали функции, выполняемые mPFC, следующим образом: «Префронтальная кора играет роль в восприятии непредвиденных обстоятельств..., обнаружении прогностических связей между действиями и последующими результатами и обеспечивает основу для гибкого, целенаправленного поведения».

Известно, что неконтролируемый стресс, лежащий в основе выработки УРС, тормозит активность mPFC (Arnsten 2009). Один из возможных механизмов такого ингибиования заключается в том, что стресс вызывает выброс норадреналина в BLA, повышая активность этой структуры (Giustino et al. 2020; Maren 2022), что в свою очередь оказывает ингибирующее влияние на mPFC через парвальбуминовые интернейроны (Floresco, Tse 2007; McGaugh, Carter 2016). Таким образом, стресс приводит к ослаблению гибкости поведения и переключает контроль поведения и эмоций с mPFC на филогенетически более древние и примитивные мозговые центры (Arnsten 2009). Причем имеются данные, согласно которым mPFC участвует в оценке того, насколько контролируемым является стресс (Amat et al. 2005; Maier 2015).

1.1.3. Участие mPFC в механизмах страха

Как упоминалось ранее, mPFC является частью внутримозговой системы страха (fear circuit). Эта система взаимосвязанных структур мозга обеспечивает формирование памяти об аверсивных событиях (fear memory, память о страхе), хранение и извлечение этих воспоминаний и их угашение (Dixsaut, Gräff 2021; Gonzalez, Fanselow 2020; Homberg 2012; Pessoa 2023).

В лабораторных условиях механизмы страха изучают с использованием условной реакции страха (УРС, fear conditioning). В ходе формирования УРС животному предъявляют условный стимул (CS+; например, звуковой сигнал /обстановка) в сочетании с безусловным стимулом (US; например, удар электрическим током). Формирование ассоциации между CS+ и US во время такого обучения приводит к тому, что изолированное предъявление CS+ начинает запускать те же врожденные защитные реакции (реакции страха), что и US (Maren 2001). Одним из основных используемых показателей, по которому можно оценить уровень страха у грызунов является замирание. Предъявление условного стимула без подкрепления вызывает угашение УРС, выражющееся в постепенном уменьшении времени замирания животного на условный стимул.

Многочисленные исследования с использованием данной модели (Burgos-Robles et al. 2009; Corcoran, Quirk 2007; Guhn et al. 2014; Milad, Quirk 2002; Vidal-Gonzalez et al. 2006), обобщённые в ряде аналитических обзоров (Dixsaut, Gräff 2021; Marek et al. 2013; Sotres-Bayon, Quirk 2010; Sung, Kaang 2022) свидетельствуют, что mPFC играет значимую роль в процессах, связанных с формированием, проявлением и угашением УРС, а также участвует в процессе консолидации памяти о страхе.

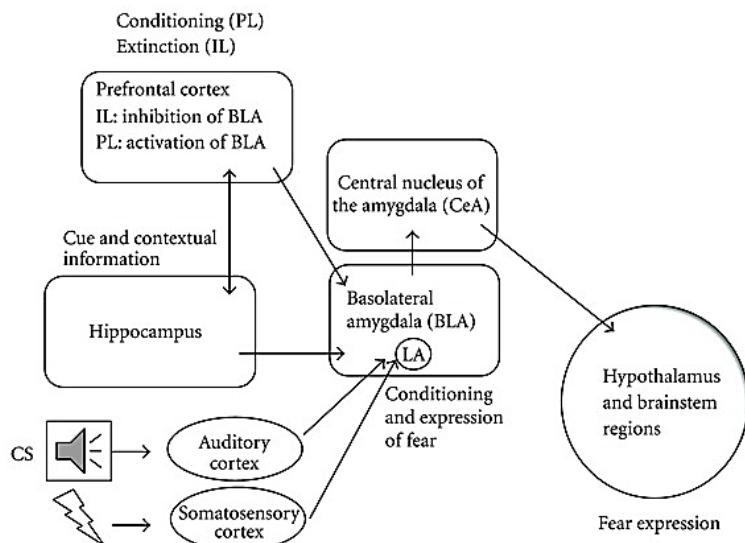


Рисунок 3. Упрощенная схема взаимодействия структур мозга, обеспечивающих возникновение и угасание УРС (Homberg 2012).

В mPFC поступают конвергентные сигналы разной модальности из областей мозга, участвующих в обработке аффективной информации. Такая интеграция информации в mPFC позволяет осуществлять регуляцию поведения и других функций с учётом опасности, обеспечивая гибкость реакций.

Поскольку субрегионы mPFC различаются, по крайней мере частично, своими проекционными паттернами, это предполагает их разные функциональные роли в

формировании, контроле проявлений и стойкости памяти о страхе (Heidbreder, Groenewegen 2003). Действительно, данные литературы свидетельствуют, что PL задействована преимущественно в формировании страха и в контроле его проявлений, в то время как активность IL играет значимую роль в его угашении (Vanvossen et al. 2017; Vidal-Gonzalez et al. 2006).

На крысах показано, что нейроны PL активируются во время предъявления CS+, ранее сочетавшегося с ударом током, причем уровень их активности коррелирует с выраженной страстью (Burgos-Robles et al. 2009). Также в соответствии с этим показано, что электрическая стимуляция PL усиливает проявления УРС (Vidal-Gonzalez et al. 2006). Однако, в отличие от нейронов латеральной амигдалы (LA), которые активируются условным стимулом на несколько сотен миллисекунд, нейроны PL демонстрируют устойчивое увеличение активности, которое отражает временной ход замирания на опасный сигнал, длившееся десятки секунд (Burgos-Robles et al. 2009). Другими словами, PL участвует в поддержании проявлений условнорефлекторного страха, инициацию которых осуществляет LA.

Участие PL в формировании и воспроизведении УРС также подтверждают исследования, основанные на фармакологической инактивации этого субрегиона mPFC у крысы. Например, введение в PL тетродотоксина, блокатора натриевых каналов, во время формирования УРС (на звук и обстановку) приводит к снижению замирания на CS+ и на опасную камеру в день выработки УРС (Corcoran, Quirk 2007), а инактивация PL мусцилом уменьшает замирание животного на CS+ во время процедуры угашения УРС (Laurent, Westbrook 2009).

Показана роль интернейронов PL в поддержании проявлений УРС и в консолидации УРС. Продемонстрировано участие парвальбуминовых интернейронов PL (их ингибиции) в проявлении памяти о страхе (Courtin et al. 2013) и её консолидации (Xia et al. 2017). Соматостатиновые интернейроны PL также вовлечены в эти процессы и демонстрируют специфический паттерн активности в ходе выработки УРС, который воспроизводится во время тестирования на проявление УРС (Cummings, Clem 2020).

Результаты ряда исследований свидетельствуют, что PL вовлечена в хранение отдалённых воспоминаний, и в том числе воспоминаний о страхе (da Silva et al. 2020; Stern et al. 2014). Продемонстрированы структурные изменения, лежащие в основе консолидации УРС в PL. Так, изучение характеристик нейронов, активирующихся в ходе предъявления CS+ в PL показало, что плотность дендритных шипиков значительно возрастает на этих клетках с течением времени после формирования УРС (Kitamura et al. 2017). При этом

угашение УРС приводит к снижению плотности шипиков на апикальных дендритах пирамидных нейронов PL у крыс (Laricchiuta et al. 2021).

Особую роль в формировании и хранении отдалённой памяти о страхе играет проекция PL к паравентрикулярному ядру таламуса (PVT). Ингибиование прелимбических нейронов, иннервирующих PVT, нарушает извлечение памяти о страхе в отдаленные, но не в недавние моменты времени. Более того, у животных, прошедших процедуру выработки УРС в проекциях PL-PVT наблюдалась более высокая плотность экспрессии генов раннего ответа *c-fos*, чем у интактных животных (Do-Monte et al. 2015).

Многочисленные исследования показали, что в отличие от PL, вовлекаемой в поддержание проявлений УРС, IL участвует в ингибиции проявлений УРС при её угашении (Bayer, Bertoglio 2020; Laurent, Westbrook 2009; Moench et al. 2016; Thompson et al. 2010). Показано, что воспроизведение памяти об угашении страха активирует нейроны IL (Milad, Quirk 2002; Tao et al. 2021), а степень такой активации отрицательно коррелирует с замиранием на опасный сигнал (Milad, Quirk 2002).

Модулирующую роль IL в угашении УРС подтвердили работы с использованием стимуляции и ингибиции нейронной активности в IL. Микростимуляция IL крыс приводила к ускоренному угасанию УРС (Vidal-Gonzalez et al. 2006), а активация IL введением антагониста рецепторов ГАМК_A во время процедуры угашения улучшала угасание УРС в последующие дни. В работах с использованием фармакологической инактивации IL мусцимолом и лидокаином перед угашением было показано, что такая блокада активности IL нарушает консолидацию памяти об угашении УРС у крыс (Awad et al. 2015; Laurent, Westbrook 2009)

Основными нейронными связями IL, опосредующими угашение УРС, являются проекции IL к BLA и к вставочным клеткам (ITC), оказывающим ингибирующее действие на CeA – выходную структуру системы страха (Berretta et al. 2005; Cho et al. 2013). Кроме того, нейроны IL, проецирующиеся на BLA, также необходимы для консолидации памяти об угашении УРС (Bloodgood et al. 2018). Выявлена роль взаимодействия IL и ядер таламуса в угасании УРС (Ramanathan, Jin et al. 2018; Tao et al. 2021). В работе (Tao et al. 2021) с применением иммуногистохимических и хемогенетических методов продемонстрировано, что ингибиование глутаматергических проекций от IL к PVT после процедуры угашения УРС впоследствии подавляло воспроизведение памяти об угашении.

Таким образом, приведённые данные демонстрируют, что нейронная активность IL оказывает влияние на степень и скорость угасания ранее сформированной реакции страха.

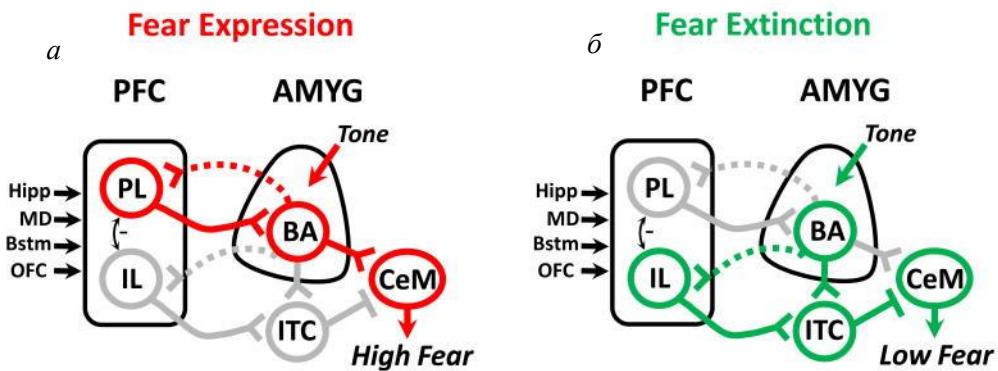


Рис 4. Префронтальный контроль проявлений (а) и угасания (б) УРС (Sotres-Bayon and Quirk 2010b).

Однако, несмотря на приведенные выше данные об участии PL и IL в различных аспектах страха, известно, что эти субрегионы mPFC функционируют согласованно. С использованием методов ретроградного (Hoover, Vertes 2007) и антероградного (Vertes 2004) отслеживания в сочетании с оптогенетической стимуляцией, были идентифицированы глутаматергические проекции от слоя L5/L6 PL к нейронам IL, и было обнаружено, что оптическая стимуляция этой связи PL-IL усиливает угасание страха (Marek et al. 2019). Исследование частотных осцилляций PL и IL *in vitro* показало согласованную активность этих двух областей, которая нарушается при их физическом разделении (van Aerde et al. 2008).

Еще один субрегион mPFC – ACC – так же как IL и PL вовлечен в процессы консолидации УРС и хранения отдаленных воспоминаний об аверсивных событиях. Так, консолидация памяти о страхе обстановки связана с ростом дендритных шипиков и увеличением их плотности на нейронах ACC. При этом процедура угашения УРС приводила к снижению плотности шипиков в этой области (Vetere et al. 2011).

В работах по исследованию роли ACC в формировании памяти об отдаленных событиях показано, что при вызове отдаленной памяти в этой области наблюдается экспрессия генов раннего ответа *c-fos* и *zif268* (Frankland et al. 2004), а обратимое ингибирование ACC лидокаином, а также оптогенетическое ингибирование этой области специфически нарушают отдаленную, но не свежую память о страхе (Frankland et al. 2004; Goshen et al. 2011), что свидетельствует об участии ACC в хранении отдаленных воспоминаний об аверсивных событиях.

В недавних исследованиях была освещена роль дорсальной педункулярной коры (DP) в поведении, связанном со страхом. В работе (Wang et al. 2024) показана вовлеченность этой области в реакцию врожденного страха, вызванного запахом хищника. В модели УРС на мышах было продемонстрировано, что хемогенетическая активация проекций DP к

дорсомедиальному таламусу способствует угашению УРС и последующему извлечению памяти об угашении УРС (Botterill et al. 2024). Кроме того, показано, что активация DP способствует формированию УРС и её последующему воспроизведению (Botterill et al. 2024). Однако в другой работе с использованием иммуногистохимических (*c-fos*) и электрофизиологических методов было обнаружено, что DP вовлекается в формирование УРС на звуковые сигналы, но не в ее угашение (Cardoso et al. 2024).

В консолидации и поддержании памяти о страхе выявлено участие не только нейрональных, но и не-нейрональных клеток mPFC, включая олигодендроциты, астроциты и микроглиальные клетки (Cui et al. 2021; Smith et al. 2019; Zou et al. 2024). Эксперименты на мышах показали, что фармакологическое ингибирирование активности микроглии способствует угасанию УРС (Cui et al. 2021). Также показано, что формирование новой миелиновой оболочки путем пролиферации клеток-предшественников олигодендроцитов в миелинизирующие олигодендроциты необходимо для хранения отдаленной памяти о страхе в mPFC (Pan et al. 2020).

Таким образом, благодаря многочисленным исследованиям функциональной активности mPFC, показана важная роль этой области в процессах регуляции УРС, а именно в её формировании, консолидации, хранении, угашении и контроле её проявлений.

1.1.4. Роль mPFC в генерализации страха

mPFC участвует, помимо механизмов формирования, проявления и угашения УРС, также в процессах генерализации страха (Asok et al. 2019; Lopresto et al. 2016). Генерализованный (обобщённый) страх возникает в ответ на безопасный стимул, схожий с тем, что ранее был ассоциирован с угрозой (Fraunfelter, Gerdes, and Alpers 2022). Такой перенос реакции страха является адаптивным механизмом, поскольку позволяет животным распространять защитные реакции на более широкий спектр стимулов. Однако чрезмерная генерализация страха является признаком патологии и сопровождает ряд психических заболеваний и расстройств, таких как посттравматическое стрессовое расстройство, обсессивно-компульсивное расстройство, генерализованное тревожное расстройство и др. (Fraunfelter et al. 2022).

В лабораторных условиях тестом на генерализацию страха является дифференцировка по Павлову. Животному после выработки УРС на условный стимул (CS+) предъявляют безопасный дифференцировочный стимул (CS-), ранее не сочетавшийся с болевым раздражением. Возникающие при этом реакции страха отражают степень генерализации УРС. В большинстве исследований, выполненных на грызунах, в качестве показателя условнорефлекторного страха используют замирание.

На грызунах показано, что изменение активности mPFC, а также её отдельных субрегионов влияет на степень генерализации страха. Например, инактивация mPFC крыс агонистом ГАМК_A-рецепторов мусцимолом перед тестом на генерализацию, но не перед формированием УРС ухудшала дискриминацию животным опасных и безопасных стимулов (Lee, Choi 2012), указывая на ингибирующую роль mPFC в процессах генерализации реакции страха. Электролитическое разрушение IL перед формированием УРС (Zelikowsky et al. 2013), а также инактивация IL и PL (Xu, Südhof 2013) способствовали сверхгенерализации УРС на обстановку. Кроме того, инактивация IL мусцимолом сразу после выработки УРС (на стадии консолидации) также сопровождалась впоследствии повышенной генерализацией УРС на обстановку, не изменяя при этом замирание в опасном контексте, что свидетельствует о влиянии IL на специфичность памяти (Bayer, Bertoglio 2020). Эти данные согласуются с описанной в предыдущем разделе ролью IL в консолидации памяти о страхе, а также в угашении УРС (Awad et al 2015; Vidal-Gonzalez et al. 2006)

ACC является еще одним субрегионом mPFC, чьё участие в генерализации страха было продемонстрировано. Исследования на грызунах показали, что инактивация ACC лидокаином (Cullen et al. 2015) а также подавление в ней нейронной активности введением антагониста AMPA/каинатных рецепторов (Einarsson et al. 2014) ослабляет генерализованный страх в отдалённый от обучения момент времени, не изменяя при этом проявления страха в опасном контексте. В другом исследовании получены данные, согласно которым инактивация проекций ACC к BLA ослабляет генерализованный страх независимо от времени проводимого тестирования, не изменяя при этом специализированный страх (Ortiz et al. 2019). На основании этих данных авторы предполагают, что сверхгенерализация страха у людей с тревожными расстройствами может быть результатом гиперактивации амигдалы вследствие изменённой сигнализации от ACC (Ortiz et al. 2019).

Показана роль связей и других субрегионов mPFC с амигдалой в дискриминации опасных и безопасных сигналов. Известно, что существует взаимосвязь между уровнем синхронизации PL и BLA и тем, насколько точно животные отличают опасный сигнал от безопасного: чем выше такая синхронизация, тем лучше животное дифференцирует сигналы (Likhtik et al. 2013). Кроме того, у мышей, предварительно обученных дифференцировать опасные и безопасные сигналы, инактивация PL мусцимолом приводит к увеличению замирания на CS-, без изменения реакции на CS+. При этом такое подавление PL селективно нарушает активацию соматостатиновых интернейронов BLA во время предъявления CS-, но не на CS+ (Stujenske et al. 2022). Эти данные указывают на

ингибирующее влияние mPFC на активность амигдалы в ходе реакции на безопасные стимулы.

Еще одним важным элементом в нейронной схеме, опосредующей генерализацию страха, является гиппокамп, а также его связи с mPFC. Известно, что в зубчатой извилине гиппокампа происходит процесс, называемый разделением паттернов, который является ключевым для дискриминации перекрывающихся сенсорных представительств сравниваемых сигналов и обеспечивает животным способность различать похожие сигналы, в том числе и обстановочные, а также события в целом (Yassa, Stark 2011). Было высказано предположение, что нарушения в разделении паттернов могут лежать в основе чрезмерной генерализации реакций страха (Kheirbek et al. 2012; Lopresto et al. 2016).

Нарушение памяти о недавних событиях инактивацией гиппокампа (Scoville and Milner 2000; Winocur et al. 2013) и приведённые ранее данные об участии mPFC (в том числе ACC) в хранении отдалённой памяти (Frankland et al. 2004; Goshen et al. 2011) позволили предположить, что с течением времени память становится в большей степени зависимой от неокортекса (Frankland, Bontempi 2005). Такой переход памяти из гиппокампа в новую кору отражает теорию системной консолидации, предполагающей, что вызов памяти в гиппокампе приводит к реактивации следов памяти в коре, способствуя постепенному укреплению кортико-кортикальных связей, что в конечном итоге позволяет новым воспоминаниям стать независимыми от гиппокампа. При этом память становится менее точной и преобразуется в схематическую, лишённую специфичности и отражающую лишь основную суть контекста или события (Asok et al. 2019).

Известно, что часть путей, связывающих mPFC с гиппокампальной формацией проходит через таламус, а именно ядро reunions (RE), и следовательно, RE является важным элементом, модулирующим взаимодействие этих двух областей мозга, в том числе и во время генерализации страха (Van Der Weel et al. 2019). В соответствии с этим показано, что усиление активности входов mPFC в RE снижает генерализацию УРС на обстановку, в то время как инактивация этих входов усиливает проявления генерализованного страха (Xu, Südhof 2013).

Продемонстрирована роль NMDA-рецепторов mPFC в процессах генерализации УРС (Vanvossen et al. 2017; Vieira et al. 2015). В работе (Vieira et al. 2015) показано, что мыши с делецией NR-субединицы NMDA-рецепторов пирамидных нейронов mPFC демонстрируют повышенную генерализацию УРС, но не отличаются от контрольных животных выработкой УРС и уровнем первоначальной генерализации. При этом в другом исследовании показано, что введения в PL NMDA сразу после формирования УРС, усиливают последующую генерализацию УРС на обстановочные стимулы (Vanvossen et al.

2017). Эти данные свидетельствуют о том, что успешная дискриминация опасных и безопасных стимулов частично обусловлена NMDA-зависимым механизмом в mPFC.

Приведенные литературные данные указывают на значимую роль mPFC процессах дискриминации опасных и безопасных стимулов. Лучшее понимание нейрофизиологических механизмов, лежащих в основе генерализации страха, имеет важное значение, поскольку оно создает возможности для разработки новых подходов к лечению ряда стрессовых и тревожных расстройств.

1.1.5. Нитрергическая система медиальной префронтальной коры

Оксид азота (NO) является газообразным мессенджером и синтезируется из аминокислоты L-аргинина в при участии фермента NO-синтазы, имеющим три изоформы: эндотелиальную, нейронную и индуцируемую (Förstermann, Sessa 2012). В ЦНС синтез NO происходит под воздействием нейронной формы NO-синтазы (nNOS), которая является Ca^{2+} / кальмодулин зависимой т. е. активируется в ответ на повышение уровня кальция в клетке (Chachlaki, Prevot 2020; Garthwaite 2008). К повышению уровня кальция в клетке может приводить, например, активация NMDA-рецепторов, что делает активацию nNOS зависимой от связывания глутамата с NMDA-рецепторами. nNOS структурно связана с белками постсинаптической плотности, сопряженными с NMDA-рецепторами (Doucet et al. 2012). Ионный канал, входящий в их структуру, в открытом состоянии проницаем для ионов кальция, которые в свою очередь связываются с кальмодулином. Таким образом, связывание глутамата с NMDA-рецепторами приводит к активации NO-синтазы и дальнейшему синтезу NO.

В силу ряда отличительных особенностей NO нельзя отнести к классическим нейротрансмиттерам: NO не запасается в синаптических везикулах, а также не имеет мембранных рецепторов, но обладает высокой диффузной способностью, позволяющей ему проходить через клеточные мембрany (Chachlaki, Prevot 2020). Одной из основных мишеней NO является растворимая гуанилатциклаза (рГЦ), активация которой приводит к образованию циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) и активации протеинкиназы G, что приводит к посттрансляционным модификациям белков (Feil, Kleppisch 2008; Garthwaite 2018). Запуская такой механизм, NO может модулировать высвобождение других нейротрансмиттеров, таких как глутамат (Segovia, Mora 1998; Sequeira et al. 1997), ГАМК (Chachlaki, Prevot 2020; Döhne et al. 2022; Yamamoto et al. 2015) и серотонин (Gartside et al. 2020; Wegener et al. 2000). В дополнение к этому, NO также может влиять на механизмы передачи сигнала, вызывая S-нитрозилирование белков, тем самым изменяя их функции (Bradley, Steinert 2016). S-нитрозилирование характеризуется добавлением группы

NO к тиолу цистеина и последующим образованием нитрозотиоловой группы, что приводит к изменениям в нейронной сигнализации и нейропластичности (Chachlaki, Prevot 2020; Jaffrey et al. 2001).

В mPFC NO продуцируется субпопуляцией ГАМКергических интернейронов, содержащих nNOS, а также отростками проекционных нейронов ядер шва, в которых nNOS колокализована с серотонином (Lu et al. 2010; Wang et al. 1995; Xu, Hökfelt 1997). Большинство NO-продуцирующих интернейронов локализованы в L5 и L6 слоях mPFC, где они участвуют среди прочего в дифференции информации, поступающей к PL и IL от базального ядра амигдалы (Lyubashina, Nozdrachev 2008).

NO участвует в регуляции функций, выполняемых mPFC. Показаны эффекты активации nNOS, оказываемые на нейротрансмиссию в этой структуре за счет модуляции возбудимости пирамидных нейронов (Warthen et al. 2016). Кроме того, NO участвует в механизмах долговременной депрессии и долговременной потенциации синаптической передачи в mPFC (Arancio et al. 1996; Hardingham et al. 2013; Noriega-Prieto et al. 2019).

В исследованиях по влиянию NO на эмоциональное поведение получены данные, что в mPFC NO опосредует эффекты антидепрессантов (Sales et al. 2024), а именно, что острое введение доксициклина уменьшает проявления стресса у мышей, снижая уровень NO в mPFC. При этом такой эффект блокируется введением донора NO и усиливается введением ингибитора индуцируемой NOS. Показано участие NO в патогенезе депрессии (Pereira et al. 2019) и реакции на стресс (Liang et al. 2020). Так, например, при помощи оптогенетических и хемогенетических методов показано, что нейроны, экспрессирующие nNOS в mPFC мышей активируются во время тревожного поведения, вызванного болевыми стимулами (Liang et al. 2020). Также есть данные, что у крыс стресс, спровоцированный предъявлением хищника, вызывает длительную активацию нитрергической системы в mPFC, которая проявляется в увеличении nNOS-положительных нейронов в этой области, а также в повышенных уровнях нитритов и нитратов (Campos et al. 2013). Кроме того, показано, что мыши с нокаутом nNOS демонстрируют повышенную генерализацию УРС (Pavesi et al. 2013).

Поскольку одной из функций mPFC является контроль проявлений реакции страха, нитрергическая система mPFC может принимать участие в этих процессах. Известно, что на NO-продуцирующих ГАМКергических интернейронах mPFC образуют синапсы отростки нейронов изentralного гиппокампа (Gabbott et al. 2002) (области, участвующей в формировании страха на обстановочные стимулы (Zhang et al. 2014)), что указывает на вероятную роль NO-сигналов mPFC в регуляции проявлений страха обстановки. Действительно, в литературе имеются данные, указывающие на участие нитрергических

механизмов mPFC в реализации УРС на обстановочные стимулы (Resstel et al. 2008; Uliana et al. 2020). В частности продемонстрировано, что введения в mPFC крыс ингибиторов NO-синтазы перед реализацией УРС снижают замирание на обстановку (Resstel et al. 2008) и предотвращают усиление условного страха на обстановку, вызванного введением антагониста каннабиноидных рецепторов (Uliana et al. 2020).

Данные, ранее полученные моими коллегами свидетельствуют, что нитрергическая система mPFC активируется во время звуковых сигналов опасности (Судоргина, Саульская 2015). Также эти данные подтверждают важность нитрергической трансмиссии в mPFC для проявления реакции страха на обстановку (Саульская, Судоргина 2015) и демонстрируют участие mPFC в контроле генерализации УРС (Саульская, Судоргина 2015). А именно показано, что выработка УРС сопровождается активацией нитрергической системы mPFC, оцениваемой по изменению уровня внеклеточного цитруллина (сопродукта NO) в mPFC, причем величина такой активации отрицательно коррелирует с выраженностю первоначальной генерализации страха (Саульская, Судоргина 2015) в день формирования этой условнорефлекторной реакции.

Эксперименты по исследованию участия нитрергической системы mPFC в проявлении условнорефлекторного страха обстановки, проводимые ранее в нашей группе, продемонстрировали, что помещение животного в камеру, где ранее проводилась выработка УРС, сопровождается активацией нитрергической системы mPFC, оцениваемой по росту уровня внеклеточного цитруллина. Причем блокада такой активации введением ингибитора nNOS в mPFC уменьшает проявления условнорефлекторного страха обстановки (замирание животных в потенциально опасной камере) (Саульская, Судоргина 2015).

Таким образом, приведённые данные свидетельствуют об участии нитрергической нейротрансмиссии mPFC в реакциях на стресс, а именно, в проявлениях тревоги и врожденного страха, в генерализации УРС на звуковые сигналы и в контроле проявлений условнорефлекторного страха обстановки.

1.2. Серотонин. Общая характеристика.

Серотонин или 5-гидрокситриптамин (5-HT) относится к классу моноаминов и является нейромедиатором/нейромодулятором центральной и периферической нервной системы, а также тканевым гормоном. Серотонин был открыт в 1948 году как сосудосуживающее вещество, выделенное из сыворотки крови (Rapport et al. 1948), а в 1953 году рецепторы серотонина были обнаружены в головном мозге (Twarog, Page 1953).

Синтез серотонина протекает как в центральной нервной системе (ЦНС), так на периферии. На периферии серотонин синтезируется в основном в энteroхромафинных клетах и интрамуральных нейронах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (Gershon, Tack 2007). В ЦНС серотонин образуется в серотонинергических нейронах, тела которых локализованы преимущественно в ядрах шва и, согласно первоначальной классификации, разделены на девять кластеров (B1–B9) (Dahlström, Fuxe 1964). Субстратом для синтеза серотонина служит незаменимая аминокислота триптофан, получаемая с пищей. Из кровотока в головной мозг триптофан проникает через гематоэнцефалический барьер при помощи переносчика LAT1 (large neutral aminoacid transporter 1). Первой и лимитирующей стадией синтеза является превращение 1-триптофана в 5-гидрокси-1-триптофан (5-HTP) под действием триптофан-5-гидроксилазы (Tph) (Gershon, Tack 2007). Этот фермент имеет две изоформы – Tph1 и Tph2. Фермент Tph1 в основном локализуется в энteroхромафинных клетках ЖКТ (Gershon 2012), тогда как Tph2 обнаруживается преимущественно в нейронах ЦНС (Gutknecht et al. 2009). Следующей стадией является превращение 5-HTP в серотонин под действием декарбоксилазы ароматических L-аминокислот.

В ЦНС синтезированный серотонин транспортируется в везикулы с помощью белка-переносчикаmonoаминов (VMAT), локализованного в дендритах, аксонах и соме нервной клетки (Hansson et al 1998). Существуют две изоформы VMAT: VMAT 1, которая присутствует только в нейроэндокринных клетках, и нейронная изоформа VMAT 2 (Erickson et al. 1996). Из везикул серотонин высвобождается путем экзоцитоза в межклеточное пространство или синаптическую щель, где он связывается с пре- и/или постсинаптическими рецепторами. Активация пресинаптического ауторецептора запускает цепь отрицательной обратной связи, снижая количество высвобождаемого серотонина (Andrade et al. 2015; Hoyer et al. 2002) а активация постсинаптического 5HT-рецептора способствует возбуждению/ торможению постсинаптического нейрона, в зависимости от типа 5HT-рецептора (Hoyer et al. 2002).

Серотонин может высвобождаться не только в синаптическую щель, но и в межклеточное пространство. Такой способ передачи называется несинаптической (диффузной, объёмной, паракринной) нейропередачей (Gianni, Pasqualetti 2023). В этом случае местом выброса серотонина являются участки расширения аксона – варикозные узлы, высвобождаясь из которых медиатор попадает во внеклеточное пространство и достигает рецепторов-мишеней, расположенных на расстоянии до нескольких микрометров от источника (Agnati et al. 2010; Descarries et al. 2008; Gianni, Pasqualetti 2023).

Захват и перенос серотонина из внеклеточного пространства в цитоплазму осуществляется главным образом Na/Cl - зависимым транспортёром серотонина (SERT) (Blakely et al. 1994). Следовательно, плотность и активность SERT – один из факторов, обуславливающих внеклеточную концентрацию серотонина и активацию его рецепторов. Помимо пресинаптического окончания, SERT могут быть локализованы и в других частях клетки, включая сому и дендриты (Blakely et al. 1994).

Внутри терминали серотонин подвергается расщеплению под действием фермента МАО_A до 5-гидроксииндолацетальдегида, затем продукт окисляется до 5-гидроксииндолуксусной кислоты, которая выводится из организма с мочой (Mohammad-Zadeh et al. 2008). Альтернативным путём является повторное упаковывание серотонина в везикулы и дальнейшее его использование для нейротрансмиссии.

1.2.1. Классификация серотониновых нейронов

Серотонинергические нейроны составляют относительно небольшую часть от всех нейронов мозга (приблизительно 0,1%): около 450 тысяч клеток в мозге человека и 20 – 26 тысяч клеток у крыс и мышей (Okaty et al. 2019). Большинство серотонинергических путей берут начало в дорсальном и медианном ядрах шва и иннервируют почти все области головного мозга (Steinbusch 1981).

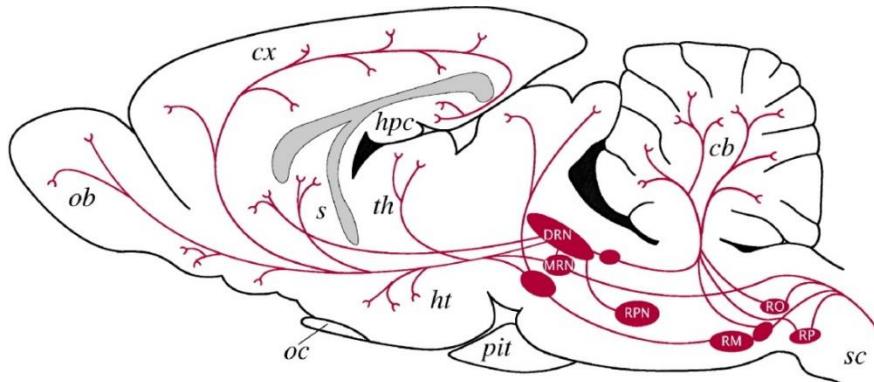


Рисунок 5. Схематическое изображение сагittalного среза мозга крысы с обозначением основных серотонинергических путей (Ögren et al. 2008). DRN: дорсальное ядро шва, MRN: медианное ядро шва, RPN: ядро шва моста, RM: большое ядро шва, RO: темное ядро шва, RP: бледное ядро шва, cx: кора головного мозга, hpc: гиппокамп, ob: обонятельная луковица, s: перегородка, th: таламус, ht: гипоталамус, oc: зрительный перекрест, pit: гипофиз, cb: мозжечок, sc: спинной мозг.

Несмотря на общую способность синтезировать и высвобождать серотонин, эти нейроны гетерогенны, т.е. различаются по своим функционально значимым свойствам, включая расположение сомы клеток, морфологию, направление проекций, электрофизиологию, нейрохимию и экспрессию генов (Okaty et al. 2019).

Скопление серотонинергических нейронов в ядрах шва разделено по их распределению и основным проекциям на две группы: ростральную (ядра B6 – B9) и каудальную (ядра B1 – B5). Ростральная группа ограничена средним мозгом и ростральным мостом и посыпает основные проекции в передний мозг (Muzerelle et al. 2016). Эта группа содержит 85% всех серотонинергических нейронов головного мозга и состоит из четырёх ядер: каудального линейного ядра, медианного (MnR) и дорсального ядер шва (DR), а также супраменискального ядра или ядра B9 (Okaty et al. 2019; Ren et al. 2018).

Каудальная группа, ограниченная каудальным отделом мозга и продолговатым мозгом, иннервирует каудальную часть ствола мозга и спинной мозг. Данную группу клеток составляют три ядра шва – большое ядро шва, тёмное ядро шва и бледное ядро шва, а также вентролатеральный продолговатый мозг (Okaty et al. 2019).

Серотониновые нейроны можно также классифицировать, исходя из размера имеющихся в них варикозных расширений. Иммуноцитохимия (Hornung et al. 1990) и методы антероградного отслеживания (Kosofsky, Molliver 1987) показали, что часть серотониновых нейронов, имеют большие варикозные узлы, а часть – маленькие. При этом мелкие варикозные расширения расположены преимущественно на аксонах, идущих из дорсального ядра шва, в то время как крупные обнаружены в проекциях медианного ядра шва. Кроме того, известно, что крупные варикозные расширения образуют классические химические синапсы с постсинаптическими нейронами, в отличие от варикозных расширений малого размера, которые в большинстве своём не являются частью синапса (Gaspar, Lillesaar 2012).

Еще одним признаком, по которому можно классифицировать серотониновые проекции ядер шва является их миелинизация. Большая часть серотониновых аксонов не миелинизированы, однако некоторые из них покрыты миелиновой оболочкой, что обуславливает разную скорость нервной проводимости этих волокон (Gaspar, Lillesaar 2012).

1.2.2. Нейрохимическое разнообразие серотониновых нейронов

Данные исследований, выполненных методами иммуногистологии, гибридизации мРНК *in situ*, транскрипционного профилирования, а также электрофизиологическими методами *in vitro* и *in vivo* демонстрируют, что определённые серотонинергические нейроны ядер шва также способны высвобождать и другие медиаторы, такие как глутамат, гамма-аминомаслянная кислота (ГАМК), оксид азота и некоторые нейропептиды (Okaty et al. 2019). Доказательства глутаматергической сотрансмиссии в серотониновых нейронах ядер шва основаны главным образом на данных, свидетельствующих об экспрессии этими

нейронами везикулярного переносчика глутамата 3 (Vglut 3), который отвечает за перенос глутамата в синаптические везикулы и является маркером глутматергических нейронов. Показано, что 80% серотонинергических нейронов в вентромедиальных MnR и DR экспрессируют Vglut 3 (Hioki et al. 2010). Функциональное высвобождение глутамата из терминалей серотониновых нейронов было подтверждено исследованиями с использованием электрофизиологических и оптогенетических методов (Kapoor et al. 2016; Liu et al. 2014; Varga et al. 2009), а также гистохимических методов, демонстрирующих, что нейроны DR, высвобождающие серотонин и глутамат, активируются под воздействием острого неконтролируемого стресса, при этом баланс высвобождаемых серотонина и глутамата может влиять на восприимчивость к стрессу (Gullino et al. 2023). Кроме того, в работе (Li et al. 2024) показано, что острый стресс у мышей (выработка УРС) приводит к изменению соотношения глутамата и ГАМК в популяции серотониновых нейронов ядер шва – увеличению числа нейронов, соэкспрессирующих серотонин и ГАМК, но уменьшению числа нейронов, соэкспрессирующих серотонин и глутамат. Такие изменения опосредуются активацией глюкокортикоидных рецепторов и сопровождаются возникновением генерализованного страха (Li et al. 2024).

Также известно, что некоторые из нейронов, соэкспрессирующих мРНК Vglut и Tph2, экспрессируют мРНК фермента синтеза ГАМК – Gad1, что является предпосылкой для совместного высвобождения глутамата, ГАМК и серотонина отдельными нейронами (Okaty et al. 2019).

Для серотонинергических нейронов ядер шва также показана экспрессия генов, кодирующих различные нейропептиды, среди которых: вещество P, тиреотропин-рилизинг-гормон, энкефалин и др. (Yan et al. 2013) и совместная экспрессия Tph2 с транскриптами, кодирующими продинорфин, галанин, кортикотропин-рилизинг-гормон и NOs (Hoökfelt et al. 2000; Simpson et al. 2003).

1.2.3. Рецепторы серотонина

Рецепторы серотонина представлены семью типами (5-HT₁-5-HT₇), в каждом из которых выделяют несколько подтипов. Шесть из семи типов рецепторов – метаботропные т.е. связанны с G-белком (5HT₁, 5HT₂, 5HT₄-5HT₇). Рецепторы третьего типа (5HT₃), уникальны тем, что включают в свою структуру лиганд-зависимый ионный канал (Berger et al. 2008; Hoyer et al. 2002), т.е. являются ионотропными.

Каждый из типов метаботропных серотониновых рецепторов способен определённым образом связываться с эффекторным белком (аденилатциклазой, фосфолипазой С), – положительно или отрицательно – являясь при этом возбуждающим

или тормозным соответственно. Связывание серотонина с ионным каналом Na^+/K^+ рецептора 5-HT₃, приводит к деполяризации плазматической мембраны, т.е. оказывает возбуждающие эффекты (Hoyer et al. 2002).

Серотониновые рецепторы широко распространены как в ЦНС, так и на периферии: в головном и спинном мозге (Sharp, Barnes 2020), желудочно-кишечном тракте (Beattie, Smith 2008), гладкой мускулатуре (Wouters et al. 2007), кровеносных сосудах (Kaumann, Levy 2006). Такое широкое распространение серотониновых рецепторов, а также многообразие их типов отчасти обеспечивают то множество эффектов, которые серотонин способен оказывать на функции организма. Ниже более подробно будет рассмотрена локализация серотиновых рецепторов и электрофизиологические эффекты их активации в некоторых структурах головного мозга, а также в неокортексе.

В неокортексе крыс среди 5-HT-рецепторов наиболее распространёнными являются подтипы 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} и 5-HT_{2C} (Bockaert et al. 2006). При этом наблюдается выраженный ростро-каудальный отрицательный градиент плотности распределения рецептора 5-HT_{1A} (Weber, Andrade 2010). У грызунов и приматов рецепторы 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} в большом количестве присутствуют на мембранах нервных клеток в передних областях коры и, в частности, mPFC (Amargós-Bosch et al. 2004; Hall et al. 2000). Исследования показали, что около 50% пирамидных нейронов и 20–30% ГАМКергических интернейронов экспрессируют мРНК рецепторов 5-HT_{1A} и/или 5-HT_{2A} в различных областях префронтальной коры (Santana et al. 2004).

5-HT₁-рецепторы связаны с G_{i/o}-семейством G-белков и опосредуют торможение нейронной активности через открытие K⁺-каналов (Bockaert et al. 2006). Рецепторы 5-HT_{1A} плотно экспрессируются в лимбических областях (и особенно в гиппокампе) преимущественно постсинаптически. Ауторецепторы 5-HT_{1A} локализованы на телах клеток и дендритах 5-HT-нейронов дорсального и медианного ядер шва (Riad et al. 2000). Применение агонистов рецепторов 5-HT_{1A} вызывает гиперполяризацию мембранны и снижает её входное сопротивление в 5-HT-нейронах дорсального ядра шва *in vitro* (Celada et al. 2013), что приводит к снижению вероятности появления потенциала действия. Гетерорецепторы 5-HT_{1A} могут участвовать в модуляции выброса различных медиаторов, в том числе глутамата. Например, известно, что активация рецепторов 5-HT_{1A} подавляет AMPA-опосредованную передачу сигналов (Cai et al. 2002) и снижает NMDA-опосредованные токи в нейронах префронтальной коры (Zhong et al. 2008).

Рецепторы 5-HT_{1B} и 5-HT_{1D} являются гомологами (5-HT_{1B} экспрессируются у грызунов, а 5-HT_{1D} – у не-грызунов) и широко распространены в головном мозге с относительно низким содержанием в коре (Hoyer et al. 2002). Рецепторы 5-HT_{1B}

располагаются преимущественно на окончаниях аксонов (Boschert et al. 1994), распространены в базальных ганглиях и гиппокампальной формации, особенно в субикулуме (Celada et al. 2013) и могут являться как ауторецепторами, так и гетерорецепторами.

5-HT₂-рецепторы сопряжены с белками G_{q/ii}, и их активация, действуя через фосфолипазу C, приводит к усилению гидролиза инозитолфосфатов и повышению уровня цитозольного Ca²⁺. Рецептор 5-HT_{2A} является основным G-белок-сопряжённым рецептором, посредством которого серотонин оказывает возбуждающее действие. 5-HT_{2A}-рецепторы в ЦНС расположены преимущественно в коре головного мозга: на дендритах возбуждающих глутаматергических пирамидных нейронов, на мембранах пирамидных и ГАМКергических интернейронов (Santana et al. 2004), а также в базальных ганглиях (Hooyer et al. 2002). Кроме того, они активно экспрессируются в интернейронах, содержащих парвальбумин и кальбиндин, участвующих в прямом торможении пирамидных нейронов (Puig et al. 2010).

Рецепторы 5-HT_{2B} невыраженно экспрессируются в головном мозге, в отличие от подтипа 5-HT_{2C}, который присутствует в различных областях коры головного мозга грызунов, особенно в префронтальной коре, лимбической системе (прилежащем ядре, гиппокампе, амигдале) и базальных ганглиях (хвостатом ядре, черной субстанции) как пре-, так и постсинаптически.

Рецептор 5-HT₃ является ионотропным, и его активация приводит к быстрой деполяризации за счет кратковременного входящего тока после открытия неселективных катионных каналов (приток Na⁺, Ca²⁺, отток K⁺) (Lummis 2012). Рецепторы этого подтипа умеренно распространены в неокортексе и других областях мозга грызунов, таких как обонятельная кора, пирамидные нейроны гиппокампа и миндалевидное тело. При этом большая часть мРНК 5-HT₃-рецепторов коры локализована на ГАМКергических интернейронах (Lee et al. 2010).

Рецепторы семейства 5-HT₄ делятся на семь подтипов (5-HT_{4A-H}), которые различаются своими С-концевыми частями. Все подтипы 5-HT₄ действуют на аденилатцилазу, стимулируя её образование, однако некоторые из них могут действовать непосредственно на калиевые и потенциал-зависимые кальциевые каналы (Hooyer et al. 2002). У грызунов рецепторы 5-HT₄ распространены в обонятельном бугорке, некоторых структурах базальных ганглиев (например, вентральный стриатум), гиппокампальной формации и амигдале, однако в неокортексе рецептор 5HT₄ и кодирующая его мРНК содержится в относительно небольшом количестве (Celada et al. 2013).

Рецепторы 5-HT₅ делятся на два подтипа (А и В) и являются менее изученными по сравнению с другими типами. У грызунов были обнаружены оба подтипа рецептора 5-HT_{5A} и 5-HT_{5B}, однако в мозге человека был идентифицирован только подтип 5-HT_{5A}, поскольку ген 5-HT_{5B}, прерывается стоп-кодонами и приводит к образованию нефункционального белка (Hoyer et al. 2002). У крыс мРНК рецептора 5-HT_{5B} обнаруживается в относительно высоких количествах в гиппокампе, медиальной хабенуле и ядрах шва (что указывает на его потенциальную роль в качестве ауторецептора), но отсутствует в неокортексе. В то время как мРНК подтипа 5-HT_{5A} присутствует по всему мозгу, с более высокими уровнями в гиппокампе, гипоталамусе, мосте и коре головного мозга (Celada et al. 2013). Предполагается, что рецептор 5-HT₅ является тормозным, поскольку у крыс рекомбинантный рецептор 5-HT_{5A} может быть отрицательно связан с активностью аденилатциклазы, при этом данный подтип экспрессируется преимущественно в астроцитах (Hoyer et al. 2002; Nelson 2004).

У крыс рецептор 5-HT₆ положительно связан с аденилатциклазой через белок Gs. Матричная РНК рецептора 5-HT₆ крысы и человека локализована в стриатуме, миндалевидном теле, прилежащем ядре, и обонятельном бугорке с наибольшим содержанием в гиппокампе и гипоталамусе, тогда как кора головного мозга, черная субстанция и спинной мозг содержат низкие/умеренные уровни данной мРНК (Celada et al. 2013). Иммуногистохимические исследования показали выраженную дендритную локализацию рецептора 5-HT₆ в ЦНС преимущественно на ГАМКергических нейронах (Bockaert et al. 2006).

Тип рецепторов 5-HT₇ включает в себя несколько подтипов (5-HT_{7A-D}). Содержание мРНК рецептора 5-HT₇ у грызунов обнаружено в таламусе, гиппокампе, прозрачной перегородке, гипоталамусе, амигдале, околоводопроводном сером веществе, коре (как в пирамидных, так и в ГАМКергических нейронах), а также в ядрах шва (Celada et al. 2013). Рецепторы этого типа положительно модулируют образование цАМФ посредством белка Gs, возможно, через стимулируемую кальмодулином аденилатциклазу (Hoyer et al. 2002).

Таким образом, серотонин, высвобождаемый из аксонов, иннервирующих большинство областей головного мозга, может модулировать активность нейронов этих областей через несколько различных типов рецепторов. Как отмечалось ранее, многообразие рецепторов, различные электрофизиологические эффекты их активации, а также широкое распространение серотониновых проекций и рецепторов в ЦНС и за её пределами являются основой значимой роли серотонина во множестве физиологических процессов.

1.2.4. Функции серотонина и его роль в патогенезе психических расстройств

Известно, что серотонин может оказывать свои биологические эффекты, действуя как нейромедиатор, а также как тканевый гормон. На периферии синтез серотонина осуществляется преимущественно в энтерохромафинных клетках ЖКТ (до 90% от общего уровня 5-HT) под действием фермента триптофангидроксилазы 1 (Tph1) (Rieder et al. 2021). Помимо энтерохромафинных клеток, периферический серотонин также может синтезироваться в нейронах кишечника (Terry, Margolis 2017).

В ЖКТ серотонин регулирует моторную активность тонкого кишечника, тонус толстого кишечника (Heredia et al. 2013; Rieder et al. 2021), секрецию соляной кислоты (Nicoloff et al. 1963), а также обмен анионов, действуя на множество мишеней (интрамуральные нейроны, внешние афференты, энteroциты, гладкомышечные клетки и др.) (Guzel, Mirowska-Guzel 2022). Кроме того, в прериферических тканях функции серотонина связаны также с регуляцией сосудистого тонуса, гемостаза и иммунных реакций (Rieder et al. 2021).

Из энтерохромафинных клеток серотонин высвобождается в кровеносную систему, проходя через капиллярный слой, а затем абсорбируется тромбоцитами (Mawe, Hoffman 2013), где он играет важную роль в их агрегации, при этом действие серотонина опосредовано рецепторами 5-HT₂, локализованными на мембранах тромбоцитов (Mohammad-Zadeh et al. 2008). Кроме того, биологическая функция серотонина, содержащегося в тромбоцитах, заключается в вазоконстрикции, опосредуемой 5-HT₂-рецепторами на поверхности гладких мышц сосудов. *In vivo* серотонин, высвобождаемый активированными тромбоцитами, может вызывать сужение сосудов в большинстве крупных артерий, вен и венул (Watts et al. 2012).

В ЖКТ серотонин является среди прочего посредником во взаимодействии «микробиота – кишечник – ЦНС», которое осуществляется через нейронные, эндокринные и иммунные сигнальные пути. Так, серотонин вовлечён в регуляцию передачи сигналов от Toll-подобных рецепторов (компонентов врождённого иммунного ответа, опосредующих сигналы между микробиотой и энтеральной нервной системой): активация этих рецепторов, связана со снижением активности SERT, т.е. с усилением серотониновой активности (Gershon, Margolis 2021). Кроме того, известно, что микробиота кишечника способна стимулировать дифференцировку и созревание нейронов энтеральной нервной системы путём активации 5-HT₄-рецепторов (De Vadder et al. 2018), а также передавать сигналы по афферентным волокнам блуждающего нерва через стимуляцию локализованных на них рецепторов 5-HT₃ и 5-HT₄ (Lal et al. 2001).

Функции серотонина в ЦНС чрезвычайно многообразны, что обусловлено обширной серотониновой иннервацией большинства её отделов. Серотониновая нейропередача опосредует множество физиологических процессов, среди которых регуляция аппетита (Voigt, Fink 2015), циклов сна и бодрствования (Cespuaglio 2018; Vanini, Torterolo 2021), полового поведения (Angoa-Pérez, Kuhn 2015; Troconis et al. 2023), социального поведения (Kiser et al. 2012; Schafer, Schiller 2022), ноцицепции (Cramer et al. 2023), в том числе боли при мигрени (Sokolov et al. 2024), а также состояний, связанных с эмоциональными переживаниями: стресс (Holmes 2008; Tafet et al. 2001), тревога (Fernandez, Gaspar 2012), агрессия (Olivier 2004) и др. Кроме того, известно, что нарушение регуляции серотонинергической системы вовлечено в патогенез многих психических и неврологических расстройств (Pourhamzeh et al. 2022).

1.2.4.1. Роль серотонина в агрессивном поведении

Одним из наиболее ярких поведенческих эффектов ослабления активности серотонинергической системы в мозге является усиление импульсивного и агрессивного поведения (Кудрявцева 2015, Duke et al. 2013; Mosienko et al. 2015; Olivier 2004). Такая связь многократно подтверждалась в том числе экспериментами на грызунах с использованием генного нокаута Tph2 (Mosienko et al. 2015) и SERT (Heiming et al. 2013), а также экспериментами с истощением запасов триптофана. Так, показано, что мыши и крысы, нокаутные по гену, кодирующему фермент Tph2, демонстрируют повышенную агрессию (Kästner et al. 2019; Meng et al. 2022), а мыши, нокаутные по гену транспортера серотонина, и как следствие имеющие более высокие уровни серотонина, напротив, оказались менее склонными к агрессии (Heiming et al. 2013). Исследования, основанные на подходе истощения триптофана посредством соответствующей диеты также показали, что низкий уровень серотонина может ухудшать настроение и усиливать агрессию (Kantak et al. 1980), тогда как прием триптофана, напротив, приводит к ослаблению проявлений агрессии (Duke et al. 2013). Также показано, что у линии высокоагрессивных крыс наблюдается увеличение индекса метаболизма серотонина, определяемого по количеству его основного метаболита, 5-гидроксииндолуксусной кислоты, во фронтальной коре (Правикова 2024). Выявлена роль серотониновых рецепторов (в основном 5-HT_{1B} и 5-HT_{1A}) в регуляции агрессивного поведения (Olivier 2004). Исследования отдельных регионов мозга методом микродиализа показали, что в ходе агрессивного поведения у крыс уровень серотонина снижается в медиальной префронтальной коре, но не в прилежащем ядре (Van Erp, Miczek 2000; Ferrari et al. 2003), что указывает на возможную разнонаправленную роль разных групп

серотонинергических нейронов ядер шва, а также рецепторов серотонина в регуляции агрессивного поведения.

1.2.4.2. Роль серотонина в тревожном поведении

Серотониновая система головного мозга в значительной степени вовлечена в модуляцию уровня тревоги (Daubert, Condron 2010; Graeff et al. 1996) при этом, в отличие от эффектов влияния на агрессивное поведение, снижение уровня серотонина в ЦНС в большинстве случаев приводит к ослаблению проявлений тревоги. Такие данные получены в первую очередь на грызунах со сниженным при помощи генетических моделей уровнем серотонина в мозге: делеция гена Tph2, генный нокаут транскрипционного фактора *Pet*, модулирующего развитие и дифференцировку серотониновых нейронов, сверхэкспрессия SERT, а также подавление синаптического высвобождения серотонина приводят к снижению тревожного поведения в поведенческих тестах (Fernandez, Gaspar 2012). При этом влияния таких генетических модификаций на проявления депрессии оказались менее последовательными – в этих исследованиях не было выявлено прямой взаимосвязи между низкими уровнями серотонина в ЦНС и депрессивно-подобным поведением (Fernandez, Gaspar 2012).

Показано, что генный нокаут SERT, приводящий к увеличению содержания серотонина в межклеточном пространстве, напротив, усиливает тревожное поведение (Holmes et al. 2003). Результаты исследований, основанных на фармакологическом снижении серотонинергической активности также демонстрируют, что такое снижение оказывает анксиолитические эффекты в тестах на проявления тревоги (Griebel 1995). Вместе с тем, есть данные, свидетельствующие, что избирательное снижение серотониновой активности в переднем мозге (Liu et al. 2010), и в том числе в mPFC (Pum et al. 2009), напротив, усиливает поведенческие показатели, связанные с тревогой.

В то же время известно, что препараты класса селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС), действующие на SERT и повышающие уровень серотонина в ЦНС, используются для лечения депрессии и тревожных расстройств, однако терапевтический эффект наступает через 2-3 недели после начала их применения (Dell'Osso et al. 2010). При этом острое введение СИОЗС и первые недели начала системного применения, напротив, сопровождаются повышением тревоги, что согласуется с вышеизложенными результатами генетических и фармакологических экспериментов.

Продемонстрирована роль 5HT_{1A}- и 5-HT_{2A}-рецепторов в модуляции тревожного поведения: показано, что мыши, нокаутные по гену рецептора 5HT_{1A} больше подвержены проявлениям тревоги (Gross et al. 2002; Iacono, Gross 2008), возможно, за счет тормозного

влияния активации данного рецептора на лимбические структуры, играющие значительную роль в контроле тревожных и стрессовых состояний (Carhart-Harris, Nutt 2017). Нокаут у мышей гена 5-HT_{2A}, напротив, приводит к пониженной тревожности, которая нормализуется при восстановлении его функционирования (Weisstaub et al. 2006), в связи с чем возникла идея о противоположно направленных эффектах активации этих двух типов серотониновых рецепторов при регуляции проявлений тревоги (Carhart-Harris, Nutt 2017).

В соответствии с приведёнными данными, существует точка зрения, что уровень серотониновой активности коррелирует со стратегией поведения животного во время стресса: высокие уровни серотонина связаны с пассивностью реакции и большей терпимостью по отношению к стрессу, в то время как низкая активность серотониновой системы коррелирует с активной стратегией и попытками избегания стресса (Latanov et al. 2019). Это также подтверждается данными, свидетельствующими, что повышенная серотониновая активность в ядрах шва и амигдале наблюдается при выработке выученной беспомощности (Amat et al. 2010a; Dolzani et al. 2016) и реакции подчинения (Amat et al. 2010b; Paul et al. 2011). В то время как избеганию болевого раздражения, а также избеганию агрессора соответствует пониженный уровень серотонинергической трансмиссии (Tenen 1967; Tops et al. 2009).

1.2.4.3. Роль серотонина в патогенезе депрессии

Несмотря на высокую распространенность большой депрессии и ее значительное влияние на качество жизни населения, лежащие в ее основе нейрофизиологические механизмы остаются не до конца понятными. На протяжении продолжительного времени господствующей теорией возникновения депрессии являлась теория биогенныхmonoаминов (Garver, Davis 1979; Jauhar et al. 2023) предполагающая, что причиной данного недуга является недостаточное содержание monoаминов в головном мозге (дофамина, норадреналина и серотонина). Это предположение основано, главным образом, на депрессогенном эффекте препаратов, разрушающих амины, таких как резерпин (Freis 1954), а также на действии антидепрессантов, таких как ингибиторы monoаминоксидазы, трициклические антидепрессанты и селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС). Известно, что хроническое применение СИОЗС приводит к повышению концентрации внеклеточного серотонина, блокируя его обратный захват переносчиком SERT и в ряде случаев приводят к ремиссии при лечении депрессии и тревожных расстройств (Hieronymus et al. 2016; Zohar, Westenberg 2000). Однако эффективность антидепрессантов, в том числе и класса СИОЗС остаётся предметом дискуссий (Cipriani et al. 2018; Munkholm et al. 2019), а фармакологические механизмы,

приводящие к ремиссии клинических симптомов при приёме антидепрессантов не вполне ясны.

Еще одним аргументом в пользу участия серотонина в депрессии было наблюдение, что острое истощение триптофана может вызвать рецидив симптомов у пациентов, ранее страдавших депрессией (Smith et al. 1997). Однако предполагают, что этот факт может указывать на способность серотонина участвовать в восстановлении после депрессии, а не оказывать первичное влияние на настроение у людей, перенёсших депрессию в прошлом (Cowen, Browning 2015; Harmer et al. 2009). В нескольких исследованиях была установлена роль рецепторов 5HT_{1A} в патогенезе депрессии, а также в лечении этого расстройства с помощью СИОЗС (Savitz et al. 2009; Źmudzka et al. 2018)

Вместе с тем, стоит отметить, что несмотря на популярность теорий, связывающих низкую активность серотониновой системы с возникновением депрессии, в последнее время все больше авторов считают концепции, связывающие низкий уровень серотонина с депрессивным настроением, несостоятельными (Andrews et al. 2015; Kennis et al. 2020; Moncrieff et al. 2022). В частности, в работе (Moncrieff et al. 2022) проведен обширный мета-анализ исследований и обзоров, посвященных роли тех или иных компонентов серотониновой системы в патогенезе депрессии у людей, в том числе: рецептора 5HT_{1A}, уровней 5HIAA (метаболита серотонина) и триптофана (предшественника серотонина), уровня экспрессии SERT, а также полиморфизмов SERT. Результаты данного анализа свидетельствуют, что нет убедительных доказательств того, что у людей депрессия может быть вызвана недостаточным содержанием серотонина в мозге, предполагая, что серотониновая теория депрессии не является экспериментально обоснованной.

Ещё одной популярной теорией возникновения депрессии является нейропластическая теория (Huang et al. 2017), в некоторой степени дополняющая вышеупомянутую теорию биогенных аминов (Garver, Davis 1979). В основе данной теории лежит сниженная пластичность мозга у больных депрессией, а также участие серотонина и его рецепторов в нейронных пластических перестройках. Известно, что активация серотониновых нейронов запускает каскад реакций, приводящих к синтезу нейротрофического фактора мозга BDNF (brain-derived neurotrophic factor), который в свою очередь участвует в образовании новых связей между нейронами, что приводит к лучшей адаптации к окружающим стимулам (Kraus et al. 2017). В то время как хронический стресс, напротив, приводит к дефициту BDNF в ядрах шва и других структурах мозга (Murakami et al. 2005; Shishkina et al. 2018). Таким образом, согласно данной теории, в основе принципа действия антидепрессантов класса СИОЗС лежит BDNF-опосредованная пластичность

коры, приводящая к настройке нейронных сетей, позволяющей лучше адаптироваться к стимулам окружающей среды (Duman 2002; Sharp, Cowen 2011).

Ещё один механизм действия СИОЗС был предложен в работе (Harmer et al. 2009), выполненной при помощи магнитно-резонансной томографии. Результаты данного исследования показывают, что как у здоровых людей, так и у пациентов с депрессией прием СИОЗС приводит к изменениям в обработке эмоционально значимых стимулов, снижая искажения в их восприятии. Этот эффект возникает на ранних стадиях лечения, до клинического эффекта антидепрессанта, и, как предполагают авторы, опосредован серотонинергической иннервацией лимбической системы, особенно миндалевидного тела. С этой точки зрения повышение активности серотонина у людей с депрессией не влияет на субъективное настроение напрямую, а является причиной изменений в автоматических эмоциональных реакциях (Harmer et al. 2009).

Известно, что стресс является одним из факторов риска возникновения депрессии (Hammen 2005; Van Praag 2004). Один из предлагаемых молекулярных механизмов такого влияния описан в недавней работе (Sun et al. 2022). Авторы сообщают, что у мышей хронический стресс способствует повышенному образованию комплексов SERT с nNOS в DRN, что приводит к проявлениям депрессивно-подобного поведения. Фармакологическое разрушение таких комплексов оказывает антидепрессантный эффект, видимо, за счет подавления активности 5HT_{1A}-авторецепторов и повышения уровня серотонина в амигдале и mPFC (Sun et al. 2022).

Предложены механизмы, объединяющие рольmonoаминергического (серотонина) и не-monoаминергического компонентов (а именно, баланса глутамата и ГАМК) в патогенезе и коррекции депрессии (Li 2020). В частности, показано, что хронический стресс изменяет экспрессию глутаматергических генов в проекциях серотонинергических нейронов на средний мозг и гиппокамп крыс, что ослабляет глутаматную активность этих нейронов. Такие изменения приводят к изменениям в балансе возбуждения и торможения, вызывая депрессивно-подобные состояния (Dygallo et al. 2020).

Таким образом, данные о связи серотонина с депрессией противоречивы, однако его влияние на патогенез депрессии, вероятно, имеет место ввиду участия данного нейромедиатора в широком спектре нейрохимических процессов.

1.2.4.4. Роль серотонина в механизмах страха

Эксперименты по изучению страха с применением УРС связаны с использованием неизбежаемого болевого раздражения (например, удар током). Известно, что неконтролируемый стресс, и в том числе вызванная условнорефлекторно реакция страха,

активирует серотониновые нейроны дорсального ядра шва, вызывая выброс серотонина в структурах мозга, формирующих внутримозговую систему страха (Kawahara et al. 1993).

Одним из популярных подходов по изучению роли серотониновой передачи в механизмах формирования и выражения условнорефлекторного страха является истощение серотонина в мозге с использованием ряда методов.

В обзоре (Fernandez, Gaspar 2012), посвященном взаимосвязи генетического снижения уровня серотонина в мозге и эмоциональных реакций, приведены данные, согласно которым такое снижение приводит к усилению реакции страха. Так, избирательная инактивация *Lmx1b* (гена, кодирующего транскрипционный фактор *Pet1*, необходимый для развития серотониновых нейронов (Ding et al. 2003)) в ядрах шва, а также генный нокаут самого *Pet1* приводили к облегчению выработки реакции страха на обстановку и улучшению памяти о страхе на CS+. Делеция гена *Tph2* также приводила к усиленному замиранию на обстановочные и звуковые сигналы, ранее ассоциировавшиеся с опасностью.

Однако результаты других исследований, проводимых на основе изменения уровня SERT, демонстрируют противоположные результаты. В частности, нокаут гена SERT, приводящий к увеличению содержания внеклеточного серотонина в мозге у мышей вызывает нарушение памяти об угашении страха (Schipper et al. 2019; Wellman et al. 2007). У людей короткий вариант аллеля гена, кодирующего SERT (вариант *s*) связан со сниженной экспрессией SERT (и соответственно с высоким уровнем внеклеточного серотонина), что в свою очередь сопровождается лучшей выработкой УРС (Brocke et al. 2006; Lonsdorf et al. 2009)

Одним из возможных объяснений таких противоречий могут являться различные компенсаторные изменения, возникающие вследствие применения тех или иных необратимых манипуляций с уровнем серотонина в мозге. Например, изменения в экспрессии SERT приводят к изменениям в экспрессии и функционировании рецептора 5-HT_{1A} (Holmes et al. 2003) и 5-HT_{2A} у грызунов (Bocchio et al. 2016; Harrell, Allan 2003). Кроме того, учитывая роль серотонина в формировании и развитии нейронов (Daubert, Condron 2010b), можно предположить, что эмоциональные и физиологические изменения могут возникать в результате аномалий формирования и развития нейронов вследствие дефицита серотонина (например, (Gross et al. 2002)), а не из-за изменённой серотониновой нейротрансмиссии во время приобретения и проявления страха.

Таким образом, разнообразные генетические приёмы, нацеленные на изменение уровня серотонина в ЦНС, вызывают неодинаковые последствия, которые могут

опосредовать полученные противоположные эффекты дефицита серотонина на реакцию страха.

Одним из фармакологических подходов, обратимо изменяющих уровень серотонина, является блокада SERT с применением селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС). В ряде обзоров обобщены данные, которые показывают, что острые системные введения СИОЗС перед выработкой УРС приводят к усилению замирания на звуковой сигнал CS+ в ходе обучения (Burghardt, Bauer 2013; Ravinder et al. 2013). Аналогичным образом, введения этих препаратов перед повторным предъявлением CS+ (через 24 часа) усиливают проявления условного страха на CS+ (Burghardt, Bauer 2013), что согласуется с анксиогенными эффектами приёма СИОЗС в начале лечения.

Эффекты острых введений СИОЗС перед выработкой УРС на проявления страха обстановки различаются в разных исследованиях. Например, в работе (Hashimoto et al. 2009) сообщается об ослаблении реакции страха на обстановочные стимулы, в то время как результаты других исследований демонстрируют облегчение формирования данного вида УРС (Gravius et al. 2006; Montezinho et al. 2010). При этом острые системные введения СИОЗС перед тестированием на проявления УРС через 24 часа после выработки УРС в большинстве случаев приводят к одинаковым результатам, а именно к снижению проявлений страха на обстановку (Hashimoto et al. 2009; Montezinho et al. 2010; Muraki et al. 2008; Santos et al. 2006).

При хроническом системном воздействии СИОЗС умопятнутые ранее анксиогенные эффекты сменяются анксиолитическими, ухудшая выработку условного страха и снижая его проявления (Burghardt, Bauer 2013; Burghardt et al. 2004; Homberg 2012). Например, показано, что инъекции циталопрама (10мг/кг) крысам в течение 22 дней ухудшают выработку УРС (Burghardt et al. 2004), а хроническое воздействие флуоксетина предотвращает у крыс восстановление реакции страха на звуковой сигнал или обстановку при повторном обучении после угашения страха (Homberg 2012). Одним из механизмов такого ослабления УРС может быть ингибирование долговременной потенциации в лимбических структурах и, в частности, в гиппокампе (Cooke et al. 2014; Rubio et al. 2013).

Ещё одним фармакологическим подходом для снижения серотониновой нейротрансмиссии в мозге является введение в ядра шва агониста рецепторов 5HT_{1A} 8-OH-DPAT перед тестированием на проявления УРС. Такие эксперименты, проведенные на крысах, демонстрируют снижение замирания в ответ на CS+, ранее сочетавшийся с неизбежаемым болевым раздражением, за счет активации соматодендритных рецепторов в MnR, которые ингибируют серотонинергическую передачу по восходящим путям (Almada et al. 2009). Введения агониста 5-HT_{1A}-рецептора грызунам в гиппокамп (Stiedl et al. 2000)

и амигдалу (Groenink et al. 2000) перед выработкой УРС также приводят к ослаблению условной реакции страха через 24 часа после выработки. Тогда как мыши, нокаутные по гену рецептора 5-HT_{1A} демонстрируют усиленную реакцию страха на обстановку (Klemenhagen et al. 2006). Иными словами, рецепторы 5-HT_{1A} оказывают ингибирующее действие как на выработку, так и на проявления условного страха, снижая активность структур, задействованных в его формировании.

Рецептор 5-HT_{2A} также участвует в формировании и подавлении страха, играя значимую роль в процессах обучения и памяти. В частности, показано, что системные введения агониста рецептора 5-HT_{2A}, способствовали усиленному угасанию памяти о страхе (Hagsäter et al. 2021).

У мышей со сверхэкспрессией рецептора 5-HT₃ наблюдается усиление выработки реакции страха на обстановочные, но не на звуковые сигналы (Harrell, Allan 2003). Введение антагонистов рецепторов 5-HT₃, снижают проявления условной реакции страха (Nevins, Anthony 1994), а блокада 5HT₃-рецепторов в mPFC улучшает угасание контекстуального страха (Mohammadi-Farani et al. 2021).

Таким образом, исследования, оценивающие влияние серотониновой активности на механизмы страха в целом мозге, демонстрируют вклад серотониновой системы в процессы формирования, проявления, и угасания страха, а также консолидации памяти о страхе (Bauer 2015; Bocchio et al. 2016; Tortora et al. 2023). При этом такие серотонинергические влияния не всегда укладываются в простые закономерности и зачастую являются противоречивыми.

Серотониновая система амигдалы в механизмах страха

Во время выработки УРС (Amat et al. 1998; Yokoyama et al. 2005) и при её последующем воспроизведении (Zanoveli et al. 2009) наблюдается выброс серотонина в амигдале, что предполагает роль серотониновой модуляции активности амигдалы в ходе этих процессов. Действительно, множественные исследования и обзорные работы, подтвердили этот вывод, показывая что изменения серотониновой трансмиссии в амигдале влекут за собой изменения в формировании и контроле проявлений УРС (Bocchio et al. 2016; Hon et al. 2022; Inoue et al. 2004; Marcinkiewcz et al. 2016; Pavlova et al. 2020).

В исследовании на мышах, нокаутных по гену SERT, показано, что нарушение памяти об угасании страха сопровождалось увеличением плотности дендритных шипиков в BLA (Wellman et al. 2007). В то время как сверхэкспрессия SERT снижает активность парвальбуминовых интернейронов в BLA в ходе выработки страха через снижение активности 5HT_{2A}-рецепторов базальной амигдалы и уменьшает замирание на CS+ (Bocchio et al. 2016). При этом острые введения циталопрама (препарата класса СИОЗС) в амигдалу

грызунов после выработки УРС снижают страх на обстановку (Inoue et al. 2004) и уменьшают замирание на CS+ (Kitaichi et al. 2014). Таким образом, эффекты изменения уровня серотонина путём изменения экспрессии SERT на выраженность условной реакции страха могут быть частично обусловлены серотониновой трансмиссией в амигдале.

Эксперименты по локальному истощению серотонина в LA введением нейротоксина 5,7-дигидрокситриптамина демонстрируют, что такие введения усиливают экспрессию рецепторов глутамата и усиливает страх как в ответ на CS+, так и на обстановку (Tran et al. 2013). По другим данным введение этого же нейротоксина в BLA, напротив, сопровождается худшим формированием реакции страха, а также меньшим замиранием в ходе последующего предъявления опасного сигнала и уменьшением страха на обстановку (Johnson et al. 2015).

Мыши с генным нокаутом Tph2 демонстрируют облегчение выработки УРС в сочетании со сниженной ГАМКергической передачей в BLA (Waider et al. 2017). В работе (Baratta et al. 2016) с использованием оптогенетики показано, что у предварительно стрессированных мышей ингибирование окончаний серотониновых аксонов дорсального ядра шва в BLA во время выработки УРС нарушает память о страхе.

Все эти данные, не смотря на их противоречивость, демонстрируют, что серотониновая нейропередача LA и BLA участвует в формировании и контроле проявлений УРС.

Серотониновая система гиппокампа в механизмах страха

Гиппокамп получает серотониновую иннервацию из медианного ядра шва (Lowry, Lowry 2002; McQuade, Sharp 1997). Серотониновые сигналы деполяризуют тормозные интернейроны и снижают возбудимость пирамидных нейронов гиппокампа (Mlinar, Corradetti 2003; Passani et al. 1994), т. е. оказывают преимущественно тормозные эффекты на его активность. Показано, что серотониновая регуляция активности пирамидных нейронов в дорсальном гиппокампе осуществляется в значительной степени за счет постсинаптических 5-HT_{1A} рецепторов. В гиппокампе 5-HT_{1A}-рецепторы могут прямо или косвенно модулировать глутаматергическую нейропередачу, регулируя активность NMDA- и AMPA-рецепторов на пирамидных клетках (Ögren et al. 2008). Показано, что введения в дорсальный гиппокамп агониста рецептора 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT через 6 часов после выработки УРС приводят к снижению выраженности страха на обстановку у крыс (Almada et al. 2009). При этом внутригиппокампальная блокада 5-HT₂-рецепторов кетансерином не влияла на проявление условнорефлекторного страха обстановки (Almada et al. 2009).

Продемонстрирована роль серотонина в торможении долговременной потенциации в гиппокампе через активацию рецепторов 5HT_{1A} (Mori et al. 2001; Sakai, Tanaka 1993). В

соответствие с этим у мышей с нокаутом Trh2 лучше формируется память о страхе обстановки, а также наблюдается усиление проявлений такого страха, по мнению авторов, за счет недостаточного ингибиования механизма долговременной потенциации, что приводит к сверхактивации гиппокампа (Waider et al. 2019).

Также продемонстрирована роль гиппокампальных рецепторов 5-HT_{5A}, 5-HT₆ и 5-HT₇ в механизмах памяти, связанной со страхом обстановки. В экспериментах по введению крысам антагонистов рецепторов 5-HT_{5A}, 5-HT₆ и 5-HT₇ в дорсальный гиппокамп методом микроинъекций через 24 ч и 48 ч после выработки УРС показано, что подтипы рецепторов 5-HT₆ и 5-HT₇ участвуют в консолидации, а 5-HT_{5A}, 5-HT₆, 5-HT₇ – в реконсолидации памяти о страхе обстановки (Schmidt et al. 2017).

Таким образом, в гиппокампе серотонин, оказывая преимущественно тормозное влияние на эту структуру, способствует снижению проявлений УРС, а также участвует в консолидации памяти о страхе.

Серотониновая система mPFC в механизмах страха

Кора головного мозга, и в частности mPFC, получает серотонинергические сигналы преимущественно из DR и MnR (Puig et al. 2010a; Puig, Gullede 2011; Yan, Rein 2021). В mPFC серотонин модулирует глутамат- (Puig et al. 2005; Zhong et al. 2008) и ГАМКергическую трансмиссию (Feng et al. 2001) посредством активации нескольких типов рецепторов. Серотонин оказывает преимущественно тормозные влияния на активность пирамидных нейронов mPFC, хотя активационные влияния также зарегистрированы, однако в меньшей степени (López-Terrones et al. 2022). Среди серотиновых рецепторов mPFC превалируют подтипы 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} (Barnes & Sharp 1999; Celada et al. 2013b; Sharp, Barnes 2020). Рецепторы 5-HT_{1A} обнаружены главным образом на пирамидных нейронах и в меньшей степени на ГАМКергических интернейронах (Santana et al. 2004b). Рецепторы 5-HT_{2A} локализованы преимущественно на мембранах апикальных дендритов глутаматергических пирамидных нейронов (Jansson et al. 2001), где они могут усиливать воздействие входных нейронных сигналов. В соответствии с этим показано, что электрическая стимуляция DR может ингибировать (через рецепторы 5-HT_{1A}) или возбуждать (через рецепторы 5-HT_{2A}) пирамидные нейроны в mPFC (Amargós-Bosch et al. 2004). При этом сама mPFC в свою очередь также может регулировать активность DR и MnR, отправляя к ним возвратные проекции, которые оканчиваются в основном на ГАМКергических интернейронах, а также на самих серотонинергических нейронах (Celada et al. 2001; Jankowski, Sesack 2004; Srejic et al. 2016).

Серотониновая модуляция оказывает значительное влияние на синаптическую пластичность в mPFC (Ruggiero et al. 2021), а также на управляемые ею функции, в том числе на регуляцию проявлений УРС. Есть данные, что введение агониста рецептора 5-HT_{1A} 8-OH-DPAT в PL снижает проявления УРС (Almada et al. 2015), ингибируя активность этого субрегиона mPFC, и, как следствие, снижая активность амигдалы. Также известно, что в ходе реакции на стресс (Bland et al. 2003), а также в ходе воспроизведения УРС (Yoshioka et al. 1995) наблюдается выброс серотонина в mPFC. Данные, полученные ранее моими коллегами подтверждают серотонинергическую активацию mPFC во время выработки УРС, демонстрируя, что эта процедура сопровождается выбросом серотонина в mPFC крыс (Саульская, Марчук 2018; Саульская, Марчук 2019). Более того, показано, что величина этого выброса предсказывает уровень последующей генерализации УРС: чем сильнее серотонинергическая активация в mPFC в ходе выработки УРС, тем впоследствии более выражены проявления генерализованного страха на обстановочные стимулы (Саульская, Марчук 2018). Кроме того, введение в mPFC во время выработки УРС СИОЗС – флюоксетина, приводит через сутки после выработки к усилению генерализации УРС, что проявляется в усилении замирания животных на CS- (Саульская, Марчук 2019). Эти данные свидетельствуют, что существует прямая зависимость между степенью активации серотониновой системы mPFC во время формирования УРС и степенью последующей генерализации этой условнорефлекторной реакции.

В предыдущем разделе были приведены данные, согласно которым NO, напротив, способствует сдерживанию первоначальной генерализации УРС при тестировании в день выработки УРС. Однако неизвестно, сохраняются ли такие закономерности после консолидации генерализованного страха, т.е через 24 часа после выработки УРС, и могут ли такие изменения быть опосредованы влиянием NO на серотониновую передачу в этой области коры.

1.3. Взаимодействие нитрергической и серотонинергической нейромодуляторных систем в мозге

В литературе накапливаются данные о влиянии NO на серотониновую трансмиссию в разных структурах головного мозга, а также о роли таких влияний на патогенез тревожных и депрессивных расстройств (Ghasemi et al. 2019; Wegener, Joca 2023).

В исследованиях, посвященных NO-серотониновому взаимодействию в различных регионах мозга получены следующие данные. Эксперименты с системными введениями ингибитора NOS (Karolewicz et al. 1999), а также использование мышей с нокаутом nNOS (Chiavegatto et al. 2001), показали, что такая блокада продукции NO сопровождается

повышением тканевого уровня серотонина и снижением его метаболизма в нескольких областях мозга, вовлеченных в регуляцию эмоций, таких как неокортикс, гипotalамус, гиппокамп и амигдала. Интересно, что по данным другого исследования, такие животные (с генным нокаутом nNOS) демонстрируют повышенную генерализацию УРС (Pavesi et al. 2013b). Т. е. можно предположить, что влияние недостатка NO на генерализацию УРС может быть отчасти опосредовано изменённой активностью серотониновой системы. При этом следует учитывать, что у подходов, основанных на анализе тканевого уровня серотонина, имеются ограничения. А именно, часть анализируемого серотонина при таком методе является серотонином, содержащимся в крови. Кроме того, тканевый анализ сопряжен со стессом, вызванным процедурой декапитации.

Прижизненные исследования, показали, что введение донора NO S-нитрозо-N-пенициламина (SNAP) в ядра шва снижает в них высвобождение серотонина, но увеличивает этот показатель во фронтальной коре (Smith, Whitton 2000). Показано, что локальное введение SNAP вызывает увеличение уровня серотонина в полосатом теле (Trabace, Kendrick 2000). К такому же активационному эффекту приводит стимуляция нитрергической передачи в медиальной преоптической области ведением аргинина, усиливающая выброс серотонина в этой области мозга (Ghasemi et al. 2019). Согласно другим данным, системное введение и введение в гиппокамп ингибитора nNOS увеличивает внеклеточный уровень серотонина в этой структуре (Segieth et al. 2001; Wegener et al. 2000). При этом введение предшественника NO L-аргинина приводит к снижению уровня серотонина в гиппокампе (Wegener et al. 2000), но увеличивает его в стриатуме (Strasser et al. 1994).

В ряде исследований показан не только факт взаимодействия нитрергической и серотонинергической систем, но и функциональная роль такого взаимодействия в различных моделях аффективных и стрессовых расстройств. Результаты исследования (Sun et al. 2022) демонстрируют, что вследствие хронического стресса наблюдается усиленное образование комплексов SERT с nNOS в DRN мышей, что приводит к проявлениям депрессивно-подобного состояния. Причем разрушение таких комплексов сопровождается снижением проявлений депрессии, как полагают авторы, за счет подавления активности 5HT_{1A}-ауторецепторов и повышения уровня серотонина в амигдале и mPFC (Sun et al. 2022). В другой работе этих же авторов показано, что продолжительный стресс приводит к повышенной экспрессии nNOS и, следовательно, к повышенной продукции NO, что ослабляет активность серотониновых нейронов в DRN. Такие изменения сопровождаются усилением условнорефлекторного страха и его генерализации (Sun et al. 2021). В модели посттравматического стрессового расстройства продемонстрирована эффективность

системных введений ингибиторов NOS в подавлении побочных анксиогенных эффектов флуоксетина в первые дни применения этого препарата (Sadeghi et al. 2023). Показаны антидепрессантные эффекты системных введений ингибиторов NOS (*N*-нитро-L-аргинина и 7-нитроиндазола) в тесте на принудительное плаванье, которые являлись серотонин-зависимыми, поскольку блокировались введением ингибитора *Trh* – пара-хлорфенилаланина (Harkin et al. 2003).

Есть данные о возможном вкладе NO-серотонинергического взаимодействия в контроль проявлений агрессии (Chiavegatto et al. 2001). А именно, показано, что чрезмерная агрессивность и импульсивность у мышей с нокаутом nNO-синтазы сопровождается увеличением тканевого уровня серотонина, снижением его метаболизма, а также гипофункцией рецепторов 5-HT_{1A} и 5-HT_{1B} в областях мозга, регулирующих эмоции. Помимо этого, во фронтальной коре линии высокоагрессивных крыс выявлено увеличение индекса метаболизма серотонина по сравнению с линией ручных крыс и установлена обратная взаимосвязь между этим индексом и экспрессией nNOS (Правикова и др. 2024).

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о влиянии NO на активность серотониновых систем нескольких регионов мозга. Но знак таких локальных NO-серотониновых влияний разнится от структуры к структуре, и это затрудняет экстраполяцию показанных закономерностей на другие отделы мозга. При этом в литературе отсутствуют сведения о том, влияют ли локальные нитрергические сигналы mPFC на выброс серотонина в mPFC и, если влияют, то каков знак таких влияний и существует ли такое локальное NO-серотониновое взаимодействие в обеспечении функций mPFC, связанных с формированием и генерализацией условной реакции страха. Представленная работа посвящена выяснению этих вопросов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Прижизненный внутримозговой микродиализ

Метод прижизненного внутримозгового микродиализа является одним из ключевых при выполнении данной работы и позволяет *in vivo* на свободно движущихся животных анализировать химический состав межклеточного пространства локальных участков мозга.

В основе метода лежит диализная перфузия участка мозга искусственной спинномозговой жидкостью (ИСМЖ) (Saulskaya, Fofanova 2006) с использованием имплантированного в целевую область мозга зонда (диализной канюли). Диализные канюли, использовавшиеся в работе, представляют собой металлическую направляющую

трубку из нержавеющей стали, соединённую с диализной трубкой, внутри которой располагался кварцевый капилляр.

Для осуществления внутримозгового микродиализа к входу диализной канюли подключают шприцевой насос, обеспечивающий постоянную скорость потока ИСМЖ через исследуемый участок мозга. Путём диффузии через полупроницаемую мембрану, находящуюся на поверхности канюли, в ИСМЖ из межклеточного пространства проникают нейромедиаторы и их метаболиты, которые затем выводятся с током ИСМЖ наружу и поступают в сборник диализата. Полученный диализат собирают с заданным временным шагом и подвергают анализу.

Данный метод эффективен для исследования нейрохимических процессов, сопровождающих поведенческие реакции животного. Главное преимущество такого подхода заключается в определении функционального пула того или иного медиатора, то есть той доли от его содержания в мозге, которая способна оказывать действие на окружающие нейроны. Кроме того, с помощью данного метода возможно реализовывать локальные фармакологические воздействия на участки тканей мозга, а также исследовать нейрохимические и поведенческие изменения, происходящие вследствие таких воздействий.

2.2. Экспериментальные животные

Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Спрг-Доули массой 270-420 гр. (возраст 3-4 месяца) из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» (Санкт-Петербург). Все процедуры, проводимые с животными, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и одобрены комиссией по содержанию и использованию животных в ИФ РАН (протокол № 04/19 от 19.04.2021 г.). Животных, взятых в эксперимент, содержали индивидуально в условиях свободного доступа к воде и пище.

Крысы линии Спрг-Доули имеют гормональный профиль, соответствующий пониженному содержанию в крови гормонов кортикостерона, Т3 и Т4 (Kuhn et al. 1983). Такая особенность делает этих животных спокойными и удобными для проведения длительных микродиализных экспериментов, проводимых без ограничения подвижности крыс.

2.3. Имплантация диализных канюль в mPFC

Крысам под общим наркозом (Рометар, «Spopha», Чешская Республика, 1.4 мг/100 г и золетил, «Virbac Sante Animale», Франция, 5 мг/100 г, внутримышечно) унилатерально в правую mPFC имплантировали диализные канюли. Установку канюли выполняли при помощи стереотаксического аппарата (Научно-производственный отдел ИФ РАН им. И. П. Павлова) согласно стереотаксическим координатам черепа, представленным в атласе мозга крысы (Paxinos, Watson 1997). Для mPFC такие координаты составляют: A=2.7 мм, L=0.5 мм, V=4.2 мм, где A – ростральное брегмы, L – латеральное брегмы, V – глубина погружения канюли от поверхности мозга. Канюлю фиксировали при помощи стоматологического цемента и двух винтов, установленных на черепной кости. В конце операции вводили антибиотик бициллин-5 («Синтез», Россия, 30000 ЕД/100 г, внутримышечно).

2.4. Микродиализные эксперименты

Микродиализные эксперименты начинали на второй день после имплантации канюли и проводили следующим образом. Животное помещали в дневную домашнюю клетку и к входу канюли подключали диализный насос («Next Advance», США), прокачивающий ИСМЖ (NaCl (147 mM), KCl (4 mM), MgCl₂(1 mM) CaCl₂ (2 mM), pH=6.8-7.00) со скоростью 1 мкл/ мин. После стабилизационного периода (60 мин) начинали сбор нескольких фоновых порций диализата. Затем животных разделяли на группы. Для введения в mPFC фармакологических препаратов к входу канюли подключали другой насос, прокачивающий смесь ИСМЖ и необходимого препарата, добавляемого в ИСМЖ. Порции диализата собирали на протяжении всего эксперимента каждые 15 мин и анализировали на уровень внеклеточного серотонина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с электрохимической детекцией.

В экспериментах были использованы следующие вещества:

Натриевая соль диэтиламина ноноата (DEA, 0.1, 0.5, 1, 2.5 и 3 mM, «Sigma», США) – донор NO, Nω-пропил-L-аргинин (NPLA, «Tocris», США, 2 mM) – селективный ингибитор нейронной NO-синтазы (nNOS), N-нитро-L-аргинин (NA, «MP Biomedicals», США 0.5 mM) – ингибитор NO-синтазы, флуоксетин (FLU, 10 мкM, «Sigma», США) – селективный ингибитор обратного захвата серотонина, L-аргинин (R, 0.1, 1 и 5mM) – субстрат NO-синтазы.

Изучение влияния локальной нитрергической стимуляции mPFC на уровень внеклеточного серотонина в этой области коры

После сбора фоновых порций диализата животных разделили на 6 групп. Крысам группы «0.1 mM R» (n=6), «1 mM R» (n=6) и «5 mM R» (n=5) в ИСМЖ добавляли субстрат NO-синтазы L-аргинин (R) в концентрациях 0.1, 1 и 5 mM, соответственно. Животным группы «0.1 mM DEA» (n=8) в ИСМЖ добавляли донор NO DEA (0.1 mM). Крысам группы «1 mM DEA» (n=8) в ИСМЖ для перфузии mPFC добавляли DEA в концентрации 1 mM, а крысам группы «3 mM DEA» (n=8) в ИСМЖ добавляли DEA в концентрации 3 mM. Затем у животных каждой из этих групп собирали по 4 порции диализата. После этого с животными групп «0.1 mM R», «1 mM R», «5 mM R», «1 mM DEA» и «3 mM DEA» эксперимент заканчивали, а животным группы «0.1 mM DEA» продолжили введение DEA, увеличивая его концентрацию сначала до 0.5 mM, а затем до 2.5 mM (по 1 ч каждая концентрация). В ходе введения каждой концентрации препарата собирали по 4 порции диализата.

Изучение влияния локальной блокады нитрергической передачи на уровень внеклеточного серотонина в mPFC

После сбора фоновых порций диализата животных разделили на 2 группы. Животным группы FLU (n = 9) в ИСМЖ добавляли селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин (FLU, 10 мкМ) и собирали 5 порций диализата. Крысам группы NA+FLU (n = 6) после сбора фоновых порций диализата в ИСМЖ добавляли сначала ингибитор NOS N-нитро-L-аргинин (NA, 0.5 mM) и собирали 5 порций диализата. Затем заменяли этот раствор на смесь 0.5 mM NA и 10 мкМ FLU и так же собирали 5 порций диализата.

Изучение влияния активации и блокады нитрергической системы mPFC в ходе выработки УРС на уровень внеклеточного серотонина в этой области, а также на выработку и генерализацию УРС

На следующий день после имплантации канюли (экспериментальный день 1) животное тестировали на двигательную активность в установке «Открытое поле» (70 × 70 см, высота 30 см) на протяжении 10 мин для определения исходного уровня исследовательской активности. Регистрировали горизонтальную активность (пересечения границ секторов установки) и количество стоек. После этого крысу пересаживали в дневную домашнюю камеру и начинали микродиализные эксперименты. После сбора фоновых порций диализата крыс разделяли на 4 группы: «DEA NONO» (n=9), «NA» (n=10), «NPLA» (n=7) и «Без введения» (n=10). Крысам группы «DEA NONO» в ИСМЖ для перфузии mPFC добавляли донор NO DEA (1 mM) и собирали 3 порции диализата. Крысам группы «NA» в ИСМЖ для перфузии mPFC добавляли ингибитор NOS NA (0.5 mM) а крысам группы «NPLA» – селективный ингибитор nNOS NPLA (2 mM) и собирали по 5 образцов диализата. Затем у животных всех групп вырабатывали УРС с

дискриминационным компонентом. Сначала крысу на 5 мин помещали в условнорефлекторную камеру и предъявляли условный сигнал (CS+, непрерывный тон, 1000 Гц, 10 сек) в сочетании с электрокожным раздражением лап (0.5 мА, 1сек, 5 сочетаний с интервалом 1 мин). Через 70 мин проводили дифференцировочную сессию 1 (дифференцировка 1): крысу помещали в дифференцировочную камеру на 5 мин и предъявляли звуковой дифференцировочный сигнал (CS-, прерывистый тон, 1000 Гц, 10 сек) – 5 раз с интервалом 1 мин. С крысами группы «Без введения» проводили такие же процедуры, но без фармакологического воздействия. В ходе тестов регистрировали время замирания (сек) на CS+ и CS- (показатель страха). Затем животное возвращали в дневной бокс и спустя 55 мин помещали в новую круглую камеру (диаметр 30 см, высота 24 см) на 10 мин для определения уровня исследовательской активности (пересечения границ секторов и стойки) на фоне введения препаратов. В конце экспериментального дня проводили отмывку канюли и тканей мозга от фармакологических препаратов искусственной спинномозговой жидкостью в течение 30 мин. После этого крысу пересаживали в ночную домашнюю клетку. На этом первый экспериментальный день заканчивали.

Во второй экспериментальный день крыс всех групп тестировали в установке «Приподнятый крестообразный лабиринт» (открытые рукава – 50 × 14 см; закрытые рукава – 50 × 14 × 40 см; центральная платформа – 14 × 14 см) для определения показателей тревожности и двигательной активности. Во время теста регистрировали время нахождения животного в открытых и закрытых рукавах, а также горизонтальную (пересечения секторов) и вертикальную (стойки/свешивания) двигательную активность в открытых и закрытых рукавах. После этого крысу пересаживали в дневную домашнюю клетку и начинали диализную перфузию mPFC. Целью второго дня было тестирование на выработанность реакции страха и на его генерализацию. После сбора фоновых порций диализата проводили дифференцировочную сессию 2 (дифференцировка 2) и предъявляли CS- так же, как в первый экспериментальный день. Затем через 70 мин животных тестировали на выработанность УРС: крыс помещали в условную камеру на 5 мин и предъявляли CS+ так же как во время выработки УРС, но без электрокожного раздражения лап, после чего собирали 5 порций диализата (схема 1). Во время тестов регистрировали время замирания животных.



Схема 1. Ход эксперимента. CS+ – условный сигнал; CS– – дифференцировочный сигнал; US – безусловный стимул (электрокожное раздражение лап).

В отдельных экспериментах у крыс с имплантированными диализными канюлями исследовали влияние введений в mPFC DEA, NA и NPLA на чувствительность крыс к электрокожному раздражению. Животным в mPFC в течение 75 мин вводили 1 mM DEA (45 мин, n=7), 0.5 mM NA (75 мин, n=6) и 2 mM NPLA (75 мин, n=6), добавляемых в ИСМЖ. Части животных (n=7) перфузию mPFC проводили ИСМЖ без добавления фармакологических препаратов. Каждую крысу помещали в бокс с решетчатым покрытием пола и определяли порог возникновения реакции на ток (мкА) и исчезновения этой реакции при снижении силы тока. Чувствительность каждого животного рассчитывали, как среднее этих двух величин. Использовали источник питания (Б5. 120/0.75, “Акип”, Россия) с функцией постоянства тока.

Исследование влияния активации и блокады NO-системы на уровень внеклеточного серотонина в mPFC

Группы	Этапы эксперимента							
	Фон, 75 мин	Смена р-ра на DEA (0.1 мМ)	сбор, 60 мин	Смена раствора на DEA 0,5 мМ	сбор, 60 мин	Смена раствора на DEA 2,5 мМ	сбор, 60 мин	
0.1 мМ DEA (n=8)	фон, 75 мин	Смена р-ра на DEA (0.1 мМ)	сбор, 60 мин	Смена раствора на DEA 0,5 мМ	сбор, 60 мин	Смена раствора на DEA 2,5 мМ	сбор, 60 мин	
1 мМ DEA (n=8)	фон, 75 мин	Смена р-ра на DEA (1 мМ)	сбор, 60 мин					
3 мМ DEA (n=8)	фон, 75 мин	Смена р-ра на DEA (3 мМ)	сбор, 60 мин					
FLU (n=9)	фон, 75 мин	Смена р-ра на FLU (10 мкМ)	сбор, 60 мин					
NA+FLU (n=6)	фон, 75 мин	Смена р-ра на NA (0.5 мМ)	сбор, 75 мин	Смена раствора на NA+FLU	сбор, 75 мин			
0.1 мМ R (n=6)	фон, 75 мин	Смена р-ра на R (0.1) мМ	сбор, 60 мин					
1 мМ R (n=6)	фон, 75 мин	Смена р-ра на R (1 мМ)	сбор, 60 мин					
5 мМ R (n=5)	фон, 75 мин	Смена р-ра на R (5 мМ)	сбор, 60 мин					

Таблица 1. Схема экспериментов. «Фон» – сбор фоновых порций диализата, «Сбор» – сбор диализата. Серым цветом выделен период сбора диализата.

Исследование влияния активации и блокады NO-системы mPFC во время выработки УРС на уровень генерализации страха

Группы	Этапы эксперимента						
	День 1	ДЕА NONO (n=9)	Открытое поле, 10 мин	фон, 75 мин	смена р-ра на DEA (1 мМ)	сбор, 45 мин	Выработка УРС
ДЕА NONO (n=9)		ДЕА NONO (n=9)	Открытое поле, 10 мин	фон, 75 мин	смена р-ра на DEA (1 мМ)	сбор, 45 мин	Выработка УРС
NA (n=10)		NA (n=10)	Открытое поле, 10 мин	фон, 75 мин	смена р-ра на NA (0.5 мМ)	сбор, 75 мин	Выработка УРС
NPLA (n=7)		NPLA (n=7)	Открытое поле, 10 мин	фон, 75 мин	смена р-ра на NPLA (2 мМ)	сбор, 75 мин	Выработка УРС
Без введения (n=10)		Без введения (n=10)	Открытое поле, 10 мин	фон, 75 мин			Выработка УРС
День 2	ДЕА NONO (n=9)	Крестообразный лабиринт	75 мин	Дифференцировка	75 мин	Реализация УРС	75 мин
	ДЕА NONO (n=9)	Крестообразный лабиринт	75 мин	Дифференцировка	75 мин	Реализация УРС	75 мин
NA (n=10)		Крестообразный лабиринт	75 мин	Дифференцировка	75 мин	Реализация УРС	75 мин
NPLA (n=7)		Крестообразный лабиринт	75 мин	Дифференцировка	75 мин	Реализация УРС	75 мин
Без введения (n=10)		Крестообразный лабиринт	75 мин	Дифференцировка	75 мин	Реализация УРС	75 мин

Таблица 2. Схема экспериментов. «Открытое поле» – тест «Открытое поле», «Крестообразный лабиринт» – тест «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Фон» – сбор фоновых порций диализата, «Сбор» – сбор диализата. Серым цветом выделен период сбора диализат

2.5. Анализ диализата на содержание внеклеточного серотонина

Для определения уровня внеклеточного серотонина в собранном диализате использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией. Принцип метода заключается в прохождении подвижной (мобильной) фазы, содержащей диализат, через колонку, содержащую неподвижную фазу. В ходе такого процесса происходит разделение исходной смеси на компоненты.

В начале каждого экспериментального дня на основе образца, содержащего стандарты серотонина и других моноаминов, видимых на хроматограмме, а также внутренний стандарт в заданных концентрациях, создавали калибровочную хроматограмму.

В ходе эксперимента вводили диализат, полученный из мозга крысы, каждые 15 мин. С помощью электрохимического детектора, регистрирующего токи окисления, определяли содержание серотонина в каждой порции диализата. Для записи и обработки хроматограмм в режиме реального времени использовали аппаратно-программный комплекс МультиХром 1.72 («Амперсенд», Россия).

Состав хроматографической установки:

- дегазатор мобильной фазы (Uniflows, DG-1210, Япония)
- насос для ВЭЖХ (Shimadzu – LC-20AD, Германия / Япония),
- петлевой инжектор (Rheodyne – Procede, США),
- колонка для обращеннофазовой хроматографии высокого давления (Luna “Phenomenex”, C18 ODS, 5 мкм, 3x150 мм, США),
- предколонка C18(2) ODS, 5 мкм, 2x3мм (Phenomenex, США).
- электрохимический детектор (Antec Leyden, Нидерланды)

Состав мобильной фазы (рН: 6.8-7):

- водный раствор карбинола (14-18 %),
- 0.1 М $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,
- 0.5 мМ ЭДТА натриевая соль (Sigma, США),
- 2 мМ KCl,
- 0.26 мМ октилсульфонат натрия (“Sigma”, США).

Концентрацию серотонина в образцах диализата выражали в нМ/л, а после этого – в процентах к собственному среднему фону.

2.6. Морфологический контроль

По завершении экспериментов животным внутрибрюшинно вводили летальную дозу уретана (1мг/кг), проводили извлечение мозга и помещали его в 10% раствор формалина на 7 дней для фиксации. После этого проводили морфологический контроль локализации диализных канюль на фронтальных срезах мозга (60 мкм), которые изготавливали на замораживающем микротоме (Точмедприбор МЗ-2, ТУ 64-1-2950-77, Украина).

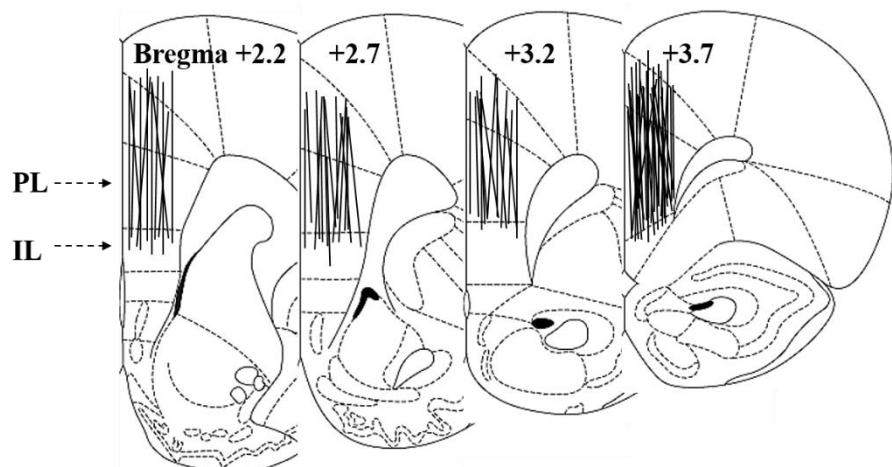


Рисунок 6. Схематическое изображение локализации диализных канюль в mPFC. Цифры на рисунке – расстояние (мм) от брегмы. PL – прелимбический отдел медиальной префронтальной коры, IL – инфралимбический отдел медиальной префронтальной коры.

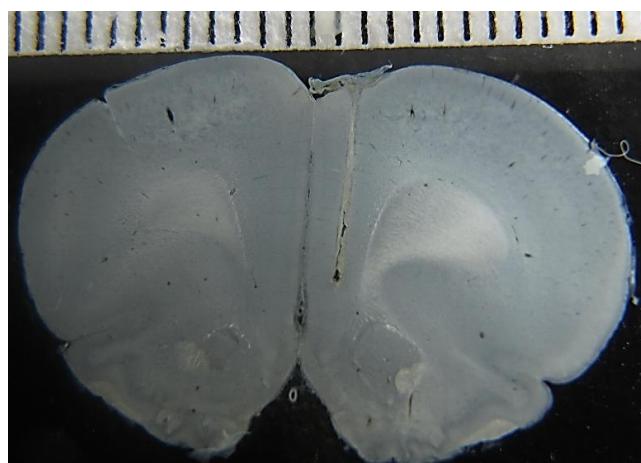


Рисунок 7. Снимок среза мозга крысы. Пример локализации диализной канюли в mPFC. Одно деление шкалы вверху снимка = 0.5 мм.

2.7 Статистическая обработка данных

Для статистической обработки использовали пакет SigmaStat (3.0). Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Выборки проверяли на нормальность распределения по методу Колмогорова-Смирнова. Изменения уровня внеклеточного серотонина по сравнению с собственным фоном оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (F-критерий) и t-критерия Бонферрони для апостериорного сравнения, если данные соответствовали нормальному распределению. Если данные не соответствовали нормальному распределению, использовали непараметрический дисперсионный анализ для повторяющихся замеров Фридмана (Хи-квадрат) и критерий Ньюмана-Килса для апостериорного анализа. Для межгруппового сравнения использовали двухфакторный дисперсионный анализ (F-критерий) и апостериорный анализ по t-критерию Бонферрони. Для межгруппового сравнения средних уровней внеклеточного серотонина за весь период введения разных концентраций препарата использовали непараметрический однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллеса (Н-критерий) и q-критерий Данна для апостериорного сравнения. Попарное сравнение поведенческих параметров осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента – для нормальных распределений и с помощью U-критерия Манна-Уитни – для распределений, не соответствующим критериям нормальности. Коэффициент корреляции вычисляли по методу Пирсона.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Влияние активации и блокады нитрергической системы mPFC на уровень серотонина в этой области коры

Влияние локальной нитрергической стимуляции на уровень внеклеточного серотонина в mPFC

Фоновый уровень серотонина перед началом введения препаратов составлял: в группе «0.1 mM DEA» 0.23 ± 0.01 нМ, в группе «1 mM DEA» 0.24 ± 0.03 нМ, в группе «3 mM DEA» 0.31 ± 0.05 нМ, в группе «0.1 mM R» 0.27 ± 0.05 нМ, в группе «1 mM R» 0.25 ± 0.04 нМ и в группе «5 mM R» 0.27 ± 0.07 нМ.

Введение субстрата NO-синтазы L-аргинина (0.1 mM) в mPFC животным группы «0.1 mM R» не вызывало значимых изменений уровня внеклеточного серотонина в mPFC в отдельных временных точках относительно фонового уровня перед введением ($F_{(9,44)} = 0.8$, $p = 0.6$) (рис. 8). Однако средний уровень внеклеточного серотонина за весь период введения препарата у крыс группы «0.1 mM R» был выше собственных фоновых значений

(рис. 9; $t = 2.49$, $p = 0.016$). Введение 1 мМ аргинина животным группы «1 мМ R» сопровождалось повышением уровня внеклеточного серотонина в mPFC (рис. 8; $X_{квадрат} = 41.96$, $p < 0.001$) с максимальным подъемом $137 \pm 8\%$ в первые 15 минут введения по отношению к собственным фоновым значениям. Введение 5 мМ аргинина крысам группы «5 мМ R» вызывало рост уровня внеклеточного серотонина в mPFC ($F_{(9,45)} = 8.8$, $p < 0.001$, рис. 8) с максимальным подъемом $125 \pm 6\%$ в первые 15 минут введения. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что крысы группы «5 мМ R» и «1 мМ R» значимо отличались от крыс группы «0.1 мМ R» по динамике изменений уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе введения аргинина (рис. 8; $F_{(9,100)} = 5.1$, $p < 0.001$ — при сравнении групп «1 мМ R» и «0.1 мМ R»; $F_{(9,100)} = 4.3$, $p < 0.001$ — при сравнении групп «5 мМ R» и «0.1 мМ R»). Межгрупповое сравнение средних (за весь период введения) значений уровня серотонина в ходе введений L-аргинина в концентрациях 0.1 мМ, 1 мМ и 5 мМ подтвердило влияние концентрации L-аргинина на этот показатель (рис. 9; $H = 105.1$, $p < 0.001$). По данным апостериорного анализа, средние (за весь период введения) уровни серотонина в mPFC при введениях 1 мМ и 5 мМ L-аргинина были выше фоновых значений и выше среднего уровня серотонина при введении 0.1 мМ L-аргинина ($p < 0.05$ во всех случаях). При этом не было выявлено значимых различий между животными групп «1 мМ R» и «5 мМ R» по изменениям уровня внеклеточного серотонина в mPFC, вызываемых введениями аргинина (рис. 8; $F_{(9,90)} = 0.8$, $p = 0.7$) и по среднему (за весь период введения) уровню внеклеточного серотонина (рис. 9; $p > 0.05$).

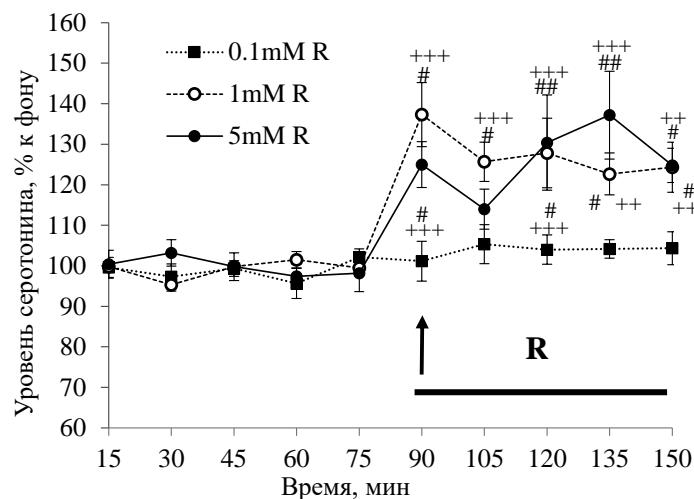


Рисунок 8. Изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC крыс с введениями в mPFC L-аргинина в концентрациях 0.1 мМ, 1 мМ и 5 мМ (группы «0.1 мМ R», «1 мМ R» и «5 мМ R», соответственно). По оси X — время, мин; по оси Y — уровень серотонина, % к фону; черная стрелка — начало введения аргинина. Разброс на графиках — ошибка среднего. # — $p < 0.05$; ## — $p < 0.001$ — при сравнении с фоном; + — $p < 0.05$; ++ — $p < 0.01$; +++ — $p < 0.001$ — при сравнении с введением 0.1 мМ L-аргинина.

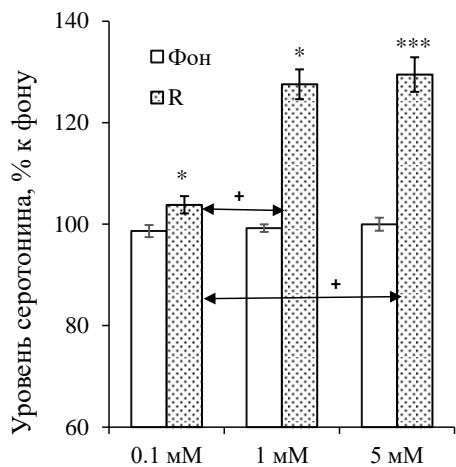


Рисунок 9. Средние (за весь период введения) изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC при введении L-аргинина (R) в концентрациях 0.1 mM, 1 mM и 5 mM относительно собственного фонового уровня (Фон). * – $p < 0.05$; *** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; + – $p < 0.05$ – при межгрупповом сравнении

Экзогенная нитрергическая стимуляция mPFC введением донора NO (0.1 mM DEA) крысам группы «0.1 mM DEA» вызывала подъем уровня внеклеточного серотонина в mPFC относительно фоновых значений (рис. 10, $F_{(8, 56)} = 15.2, p < 0.001$) с максимумом $126 \pm 5\%$ через 45 мин после начала введения. Введение в mPFC крыс группы «1 mM DEA» 1 mM DEA приводило к росту уровня внеклеточного серотонина в этой области (X^2 -квадрат = 38.1, $p < 0.001$) с максимальным подъемом $139 \pm 8\%$ в первые 15 мин введения (рис. 10). После этого наблюдалось постепенное возвращение уровня серотонина mPFC к фоновым показателям. Введение DEA в концентрации 3 mM крысам группы «3 mM DEA» также приводило к подъёму уровня внеклеточного серотонина в mPFC (X^2 -квадрат = 63.5, $p < 0.001$) с максимальным подъёмом $126 \pm 5\%$ в первые 15 минут введения (рис. 10). Затем наблюдалось падение уровня серотонина ниже фоновых значений. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил значимые различия между изменениями уровня внеклеточного серотонина в mPFC, вызываемыми введениями DEA в концентрациях 0.1, 1 и 3 mM (группы «0.1 mM DEA», «1 mM DEA» и «3 mM DEA», соответственно; (рис. 10; $F_{(16, 187)} = 12.6, p < 0.001$). При этом дозозависимое повышение уровня внеклеточного серотонина в первые 15 минут введений наблюдалось при введении DEA только в диапазоне концентраций 0.1 – 1 mM.

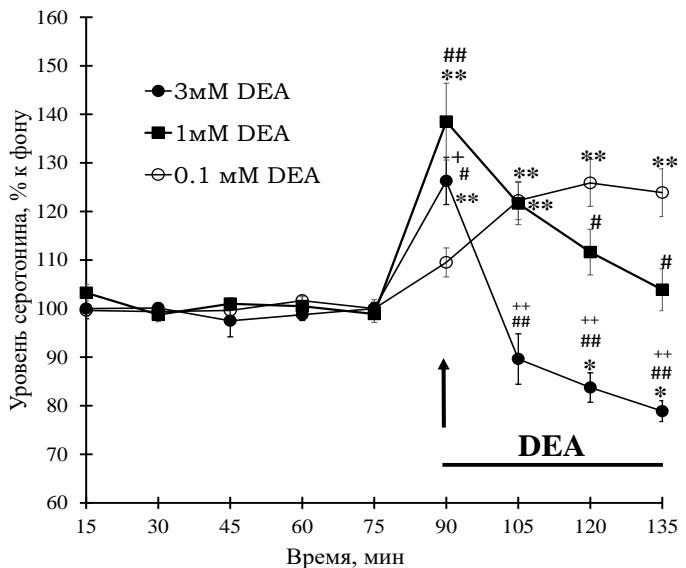


Рисунок 10. Изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC крыс с введениями в mPFC 0.1, 1 и 3 mM DEA (графики 0.1 mM DEA, 1 mM DEA и 3 mM DEA, соответственно). Черная стрелка – начало введения DEA, горизонтальная линия – период введения DEA. * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; # – $p < 0.05$; ## – $p < 0.001$ – при сравнении введением 0.1 mM DEA; + – $p < 0.05$; ++ – $p < 0.001$ – при сравнении введением 1 mM DEA. Разброс на графике и диаграмме – ошибка среднего.

Последовательное увеличение концентрации DEA у животных группы «0.1 mM DEA» с 0.1 mM до 0.5 mM, а затем до 2.5 mM тоже сопровождалось изменениями уровня серотонина в mPFC относительно фона (рис. 11; $F_{(16, 109)} = 14.2$, $p < 0.001$). А именно, введение 0.5 mM DEA приводило к росту этого показателя с максимумом ($135 \pm 8\%$), наблюдавшимся через 30 мин после начала введения данной дозы DEA. Дальнейшее увеличение концентрации DEA с 0.5 mM до 2.5 mM, напротив, снижало уровень внеклеточного серотонина в mPFC относительно фона и относительно уровня серотонина при введении 0.1 mM DEA и 0.5 mM DEA (рис. 11а). Однофакторный дисперсионный анализ выявил значимое влияние концентрации DEA (рис. 11; $H=88.4$, $p < 0.001$) на уровень внеклеточного серотонина в mPFC крыс группы «0.1 mM DEA» (рис. 11). По результатам post hoc анализа, средние (за час введения) уровни внеклеточного серотонина в mPFC при введениях 0.1 mM DEA и 0.5 mM DEA были выше фоновых значений уровня серотонина ($q = 5.0$, $p < 0.05$; $q = 4.9$, $p < 0.05$, соответственно), а при введении 2.5 mM DEA уровень серотонина был ниже фоновых значений ($q = 2.2$, $p < 0.05$), а также ниже, чем при введениях 0.1 mM DEA ($q = 7.8$, $p < 0.05$) и 0.5 mM DEA ($q = 7.7$, $p < 0.05$). Не было обнаружено значимых различий между средними (за час введения) подъемами уровня внеклеточного серотонина в mPFC, вызываемыми введениями 0.1 mM DEA и 0.5 mM DEA ($q = 0.08$, $p < 0.05$).

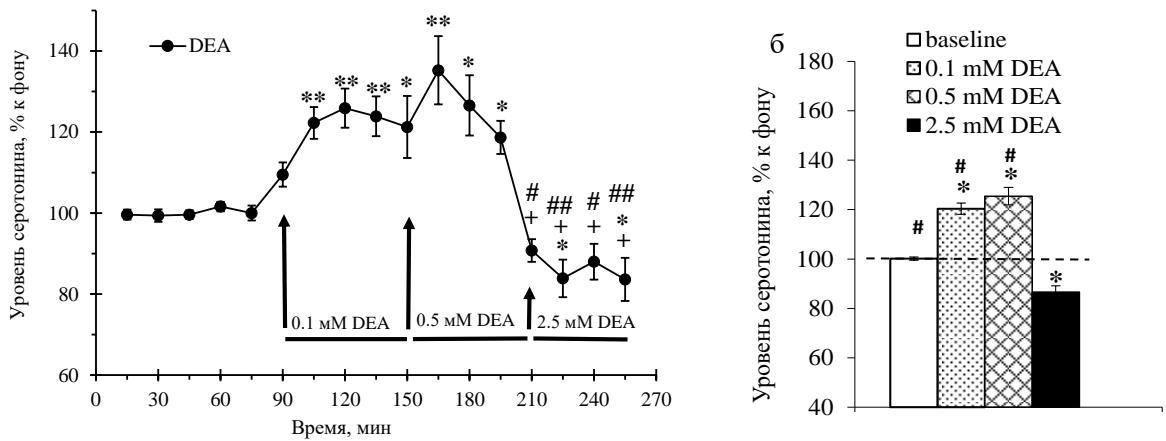


Рисунок 11. Изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC (а) при введении в эту область диэтиламин нонаоата (DEA) в концентрациях 0.1, 0.5 и 2.5 мМ (группа «0.1 мМ DEA»); По оси X – время, мин; по оси Y – уровень серотонина, % к фону; черные стрелки – начало введения разных концентраций DEA. * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; + – $p < 0.001$ – при сравнении с введением 0.1 мМ DEA; # – $p < 0.01$, ## – $p < 0.001$ – при сравнении с введением 0.5 мМ DEA. (б) – средний (за весь период введения) уровень внеклеточного серотонина в mPFC при введении каждой концентрации DEA; * – $p < 0.001$; # – $p < 0.001$ – при сравнении с введением 2.5 мМ DEA. Разброс на графике и диаграмме – ошибка среднего.

Сводный анализ изменений уровня внеклеточного серотонина в mPFC у крыс групп «0.1 мМ DEA» и «1 мМ DEA» показал, что в первые 15 мин введений DEA в концентрациях 0.1, 0.5, 1, 2.5 мМ концентрация DEA значительно влияет на уровень серотонина в mPFC с максимальным подъемом при введениях 1 мМ DEA (рис. 12а; $H=38.6$ $p < 0.001$). Корреляционный анализ продемонстрировал, что в первые 15 мин введения DEA в концентрациях 0.1, 0.5 и 1 мМ этот препарат дозозависимо увеличивал уровень внеклеточного серотонина в mPFC (рис. 12б; $r = 0.68$, $p < 0.001$, $n = 32$).

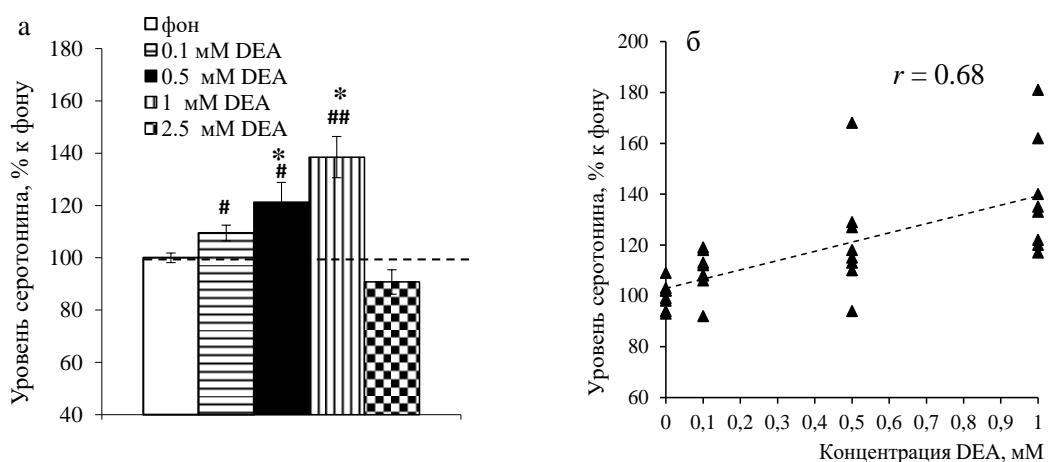


Рисунок 12. Уровень внеклеточного серотонина в mPFC крыс в первые 15 мин введения каждой концентрации DEA (а). * – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; # – $p < 0.01$, ## – $p < 0.001$ – при сравнении с введением 2.5 мМ DEA; (б) – корреляция уровня внеклеточного серотонина в mPFC и концентрации вводимого DEA (0.1–1 мМ). По оси Y – концентрация вводимого DEA. r – коэффициент корреляции.

Влияние локальной блокады нитергической передачи на уровень внеклеточного серотонина в mPFC

Введение в mPFC крыс группы «FLU» ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина (FLU, 10 мкМ) сопровождалось ростом уровня внеклеточного серотонина в мПК относительно собственного фона, который становился достоверным через 45 мин введения, с максимумом $157 \pm 11\%$ (рис. 13; Хи квадрат= 51.7, $p < 0.001$). Введение в mPFC животных группы «NA+FLU» ингибитора NOS NA (0.5 мМ), напротив, снижало уровень внеклеточного серотонина в этой области относительно фона перед введением (рис. 13; $F_{(9,45)} = 8.8, p < 0.001$). Введение в mPFC животным группы «NA+FLU» FLU (10 мкМ) на фоне предварительного введения NA (0.5 мМ) вызывало подъем уровня внеклеточного серотонина в mPFC (максимум $127 \pm 4\%$), наблюдаемый с 60-й мин введения FLU (рис. 13; $F_{(14, 70)} = 17.7, p < 0.001$). По результатам двухфакторного дисперсионного анализа животные с введением FLU на фоне введения NA (группа «NA+FLU») демонстрировали меньший по амплитуде и запаздывающий по времени подъем уровня внеклеточного серотонина mPFC по сравнению с крысами группы «FLU», подвергавшимися изолированному введению FLU (рис 13; $F_{(9, 130)} = 2.4, p = 0.02$).

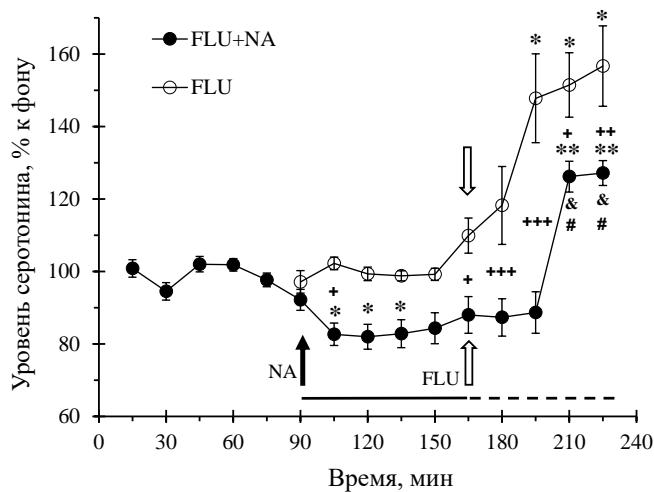


Рисунок 13. Влияние введений 10 мкМ флуоксетина (FLU) в mPFC на уровень внеклеточного серотонина, а также введений в mPFC 10 мкМ флуоксетина на фоне введения 0.5 мМ NA на фоновый уровень внеклеточного серотонина (FLU+NA). Сплошная горизонтальная линия – период введения NA крысам группе FLU + NA, пунктирная горизонтальная линия – период введения FLU изолированно крысам группе FLU или на фоне введения NA крысам группе FLU + NA. * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; + – $p < 0.05$; ++ – $p < 0.01$; +++ – $p < 0.001$ – при межгрупповом сравнении. & – $p < 0.001$ – при сравнении с уровнем серотонина перед введением FLU + NA. # – $p < 0.001$ – при сравнении с уровнем серотонина в первые 45 мин после начала введения FLU+NA.

Обсуждение результатов главы 3.1

Полученные в этом разделе результаты свидетельствуют, что серотониновая система mPFC находится под тоническими активационными влияниями эндогенного NO, поскольку устранение таких влияний локальным введением ингибитора NOS NA (0.5 мМ) снижает базальный уровень внеклеточного серотонина в этой области. Кроме того, эти данные показывают, что ингибирование NOS ослабляет и задерживает рост уровня внеклеточного серотонина в mPFC, вызываемый введением ингибитора обратного захвата серотонина FLU (10 мМ), снижая нейрохимическую эффективность этого препарата. Этот результат соответствует недавним данными литературы (Sadeghi et al. 2023), о том, что системные введения селективных ингибиторов nNOS уменьшают анксиогенные эффекты флуоксетина, наблюдавшиеся в первые дни введения этого препарата в модели посттравматического стрессового расстройства.

Эффекты эндогенной нитрергической стимуляции mPFC введениями субстрата NOS R (0.1 мМ, 1 мМ, 5 мМ) подтверждают вывод об активационном действии NO на серотониновую трансмиссию в mPFC, поскольку такие введения приводят к увеличению уровня внеклеточного серотонина в mPFC при введении R в концентрациях 1 мМ и 5 мМ. Экзогенная нитрергическая стимуляция mPFC локальными введениями донора NO DEA 0.1–1 мМ, оказывает похожее действие в первые 15 мин введения DEA, а именно, вызывает дозозависимый подъем уровня внеклеточного серотонина в mPFC. Однако в целом эффекты экзогенной нитрергической активации являются более сложными. Так, введение в mPFC DEA в больших концентрациях в (2.5 и 3 мМ) приводит к снижению уровня внеклеточного серотонина в mPFC, что, возможно, связано с десенситизацией гуанилаткиназы (Sayed et al. 2007) – мишени NO под действием высоких доз препарата или его длительного введения. Другими словами, эндогенная и экзогенная стимуляция по-разному влияют на динамику высвобождения серотонина в mPFC: эндогенная стимуляция приводит к более стабильной и длительной активации, в то время как динамика изменений уровня серотонина при экзогенной стимуляции в значительной степени зависит от концентрации вводимого NO-донора. А именно, чем выше концентрация DEA, тем выше первоначальный подъём уровня серотонина в mPFC (рис. 10; 0.1 – 1 мМ DEA) и тем быстрее ослабевает активационное действие препарата (рис. 10; 1 и 3 мМ DEA). К таким же тормозным эффектам приводит и длительное введение DEA (рис. 11). Т. е. продолжительность введения DEA также является важным фактором, влияющим на направленность действия экзогенного NO на высвобождение серотонина в mPFC.

3.2. Влияние блокады и активации нитрергической системы mPFC в ходе выработки УРС на уровень внеклеточного серотонина в этой области, а также на выработку и генерализацию УРС

Эксперименты с блокадой нитрергической системы mPFC

В teste «Открытое поле» перед началом микродиализных экспериментов крысы групп с введениями в mPFC блокатора NOS, селективного блокатора nNOS, а также крысы без введений фармакологических препаратов (группы «NA» и «NPLA» «Без введения», соответственно) не различались между собой по горизонтальной двигательной активности ($H=0.6$, $p=0.7$; пересечения -44 ± 10 , 53 ± 12 , 49 ± 12 , соответственно) и по числу стоек ($F_{(2,24)}=0.9$, $p=0.4$; значения: 9 ± 3 , 9 ± 2 , 5 ± 2 , соответственно).

Фоновый уровень внеклеточного серотонина в диализате mPFC составлял у животных группы «NA» 0.23 ± 0.06 нМ, у животных группы «NPLA» 0.23 ± 0.01 нМ и у крыс группы «Без введения» – 0.20 ± 0.01 нМ.

Выработка УРС с дискриминационным компонентом, включающая тесты «выработка УРС» и «дифференцировка 1», приводила у животных группы «Без введения» к подъемам уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе обоих тестов относительно фона (рис. 14; $F_{(13, 117)}=17.3$, $p<0.001$), что соответствует ранее полученным данным (Саульская, Марчук 2018)

Введение в mPFC животных группы «NPLA» ингибитора nNOS NPLA (2мM) снижало базальный уровень внеклеточного серотонина в mPFC относительно этого показателя перед введением препарата (рис. 14; $F_{(9, 54)}=6.4$, $p<0.001$) и на этом фоне уменьшало подъемы уровня серотонина, вызываемые выработкой УРС и дифференцировкой 1 (рис. 14; $F_{(13, 210)}=1.8$, $p=0.04$, при сравнении с группой «Без введения» и $F_{(18, 108)}=4.7$, $p<0.001$ при сравнении с собственным фоновым уровнем). А именно, у животных группы «NPLA» наблюдался рост уровня серотонина в mPFC во время выработки УРС относительно уровня перед тестом, сниженным введением NPLA ($t=4.3$, $p=0.006$), но не относительно фона перед введением NPLA ($t=1.9$, $p=1.00$). Вместе с тем у крыс группы NPLA во время дифференцировки 1 не наблюдалось изменений уровня внеклеточного серотонина в mPFC относительно фона перед введением NPLA ($t=0.47$, $p=1.00$), а также относительно уровня серотонина непосредственно перед тестом ($t=2.04$, $p=1.00$).

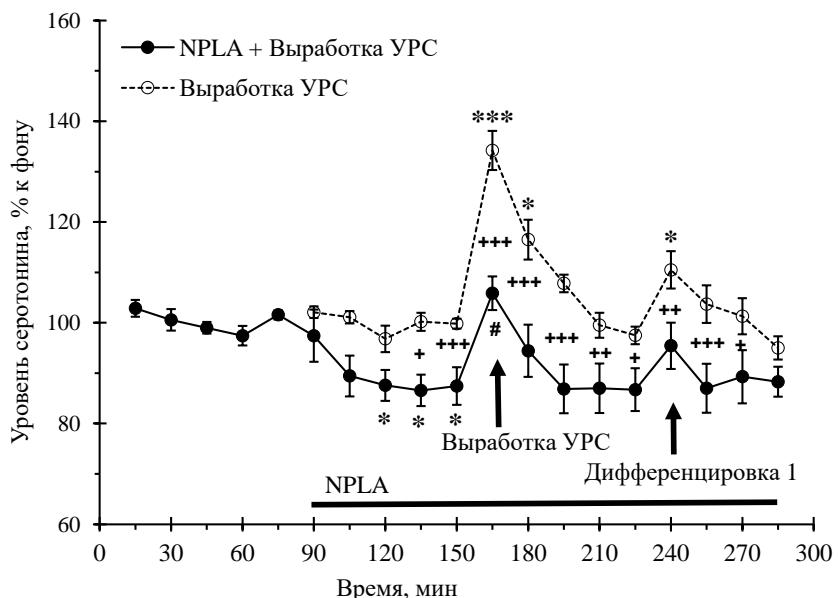


Рисунок 14. Изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе выработки УРС и дифференцировки 1 у крыс с введением (NPLA+ Выработка УРС) и без введения (Выработка УРС) в mPFC 2мM NPLA, ингибитора nNOS. По оси X – время, мин; по оси Y – уровень внеклеточного серотонина, % к фону; разброс на графике – стандартная ошибка среднего; черные стрелки – поведенческие тесты; горизонтальная линия – период введения NPLA. * – $p < 0.05$; *** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; + – $p < 0.05$; ++ – $p < 0.01$; +++ – $p < 0.001$ – при межгрупповом сравнении; # – $p < 0.05$ – при сравнении с уровнем серотонина перед тестом.

Введение крысам группы «NA» ингибитора NO-синтазы NA (0.5 mM) в mPFC тоже сопровождалось снижением базального уровня внеклеточного серотонина в этой области (рис. 13; $F_{(9, 81)}=17.2, p<0.001$), что подтверждает результаты, описанные нами выше (раздел 3.1, стр. 58, рис. 13). Уровень серотонина в mPFC крыс группы «NA» оставался сниженным относительно собственного фона в ходе большей части дальнейшего эксперимента по выработке УРС с дискриминационным компонентом, за исключением временных периодов, приходящихся на сами тесты (рис. 15; $F_{(18, 162)}=13.7, p<0.001$). А именно, во время выработки УРС и дифференцировки 1 уровень серотонина в mPFC животных группы «NA» не отличался от фонового уровня перед введением NA ($t=2.2, p=1.00$; ($t=2.6, p=1.00$, соответственно), но был выше уровня серотонина перед тестами, измененного введением NA ($t=7.0, p<0.001$; $t=7.0, p<0.001$, соответственно). Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что уровень внеклеточного серотонина в mPFC животных группы «NA» был ниже относительно этого показателя крыс группы «Без введения» при сравнении во время и после выработки УРС, но не во время дифференцировки 1 (рис. 15; $F_{(13, 252)}=3.6, p<0.001$).

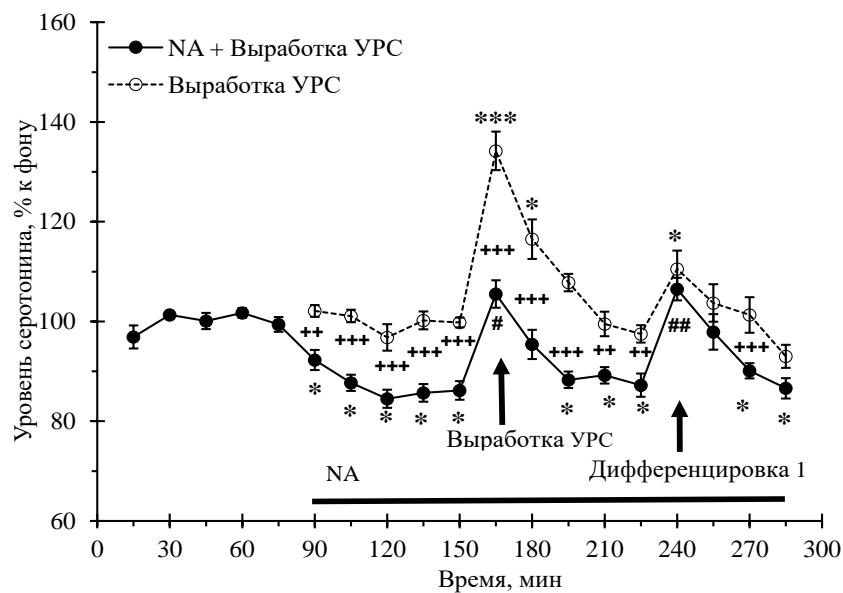


Рисунок 15. Изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе выработки УРС и дифференцировки 1 у крыс с введением (NA+ Выработка УРС) и без введения (Выработка УРС) в mPFC 0.5 mM NA, ингибитора NOS. ## – $p<0.001$ – при сравнении с уровнем серотонина перед тестом. Остальные обозначения, как на рис. 14.

Между крысами групп «NPLA» и «NA» не было различий в динамике изменений уровней внеклеточного серотонина в mPFC в ходе выработки УРС и дифференцировки 1 ($F_{(18, 285)}=1.2, p=0.3$).

Во время выработки УРС крысы групп «NA» и «NPLA» не различались между собой ($t=0.4, p=0.7$) и не отличались от крыс группы «Без введения» (рис. 16а; соответственно, $t=0.9, p=0.4$ и $t=0.3, p=0.7$) по длительности замирания на CS+ (показатель ожидания болевого раздражения). Также не было выявлено различий между крысами с введениями в mPFC NA и NPLA и животными без введений препаратов по величине горизонтальной двигательной активности в ходе этого теста (рис. 16б соответственно, $U=74.5, p=0.07$ и $t=0.9, p=0.4$). Вместе с тем крысы, подвергнутые введениями NA и NPLA в mPFC, совершали в ходе выработки УРС большее количество стоек (рис. 16в; $U=77.5, p=0.04$ и $U=14.0, p=0.04$, соответственно) по сравнению с крысами группы «Без введения» и не различались между собой по этому показателю ($t = 0.75, p = 0.47$).

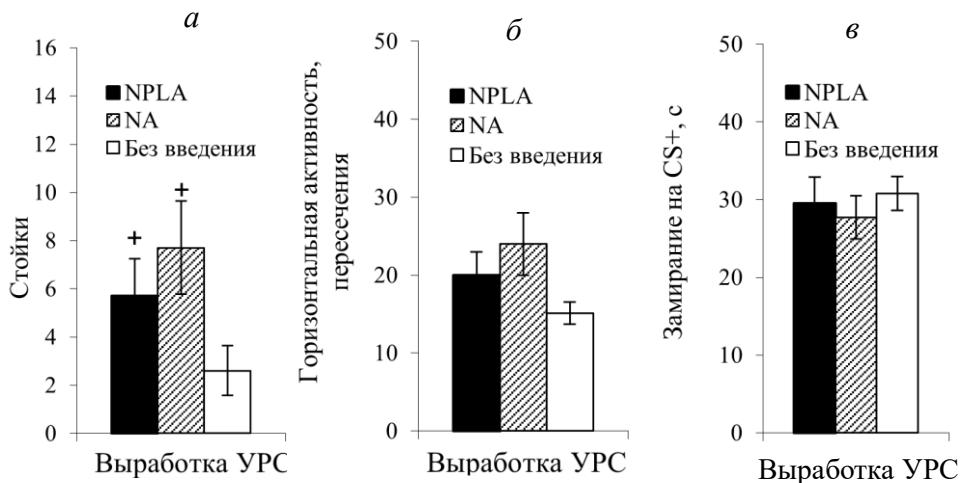


Рисунок 16. (а) Длительность замирания на CS+, сек; (б) амбуляция, пересечения; (в) число стоек во время выработки YPC у крыс с введениями в mPFC 2мМ NPLA (NPLA), 0.5 мМ NA (NA) и у животных, не подвергавшихся введениям препаратов (Без введения). (с) + – $p < 0.05$, – при сравнении с животными без введения препаратов.

Во время дифференцировки 1 (тест на первоначальную генерализацию YPC) крысы групп «NA» и «NPLA» больше замирали на CS- (рис.17а) по сравнению с животными группы «Без введения» (соответственно, $U=77.0$, $p=0.045$ и $U=11.0$, $p=0.02$), но не различались между собой по величине этого параметра ($t = 0.7$, $p = 0.5$).

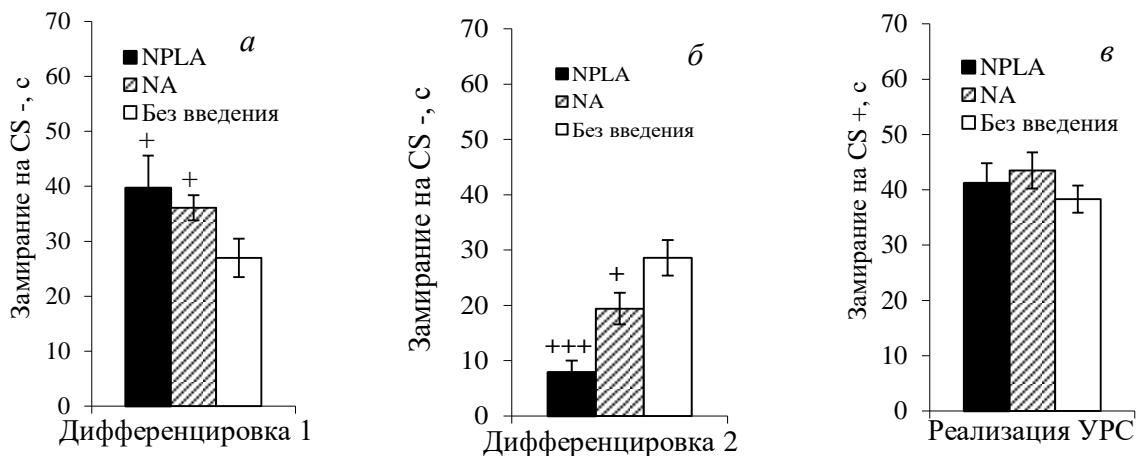


Рисунок 17. Длительность замирания на CS- (а) во время дифференцировки 1 и (б) во время дифференцировки 2, а также (в) длительность замирания на CS+ в ходе реализации YPC у крыс, подвергавшихся в первый день экспериментов введением в mPFC 2мМ NPLA (NPLA), 0.5 мМ NA (NA) и у животных без введений препаратов (Без введения). (а, б) + – $p < 0.05$; +++ – $p < 0.001$ – при сравнении с животными без введения препаратов.

Тестирование животных на исследовательское поведение в новой круглой камере в конце экспериментального дня 1 показало, что животные групп «Без введения», «NA» и «NPLA» не различаются между собой по горизонтальной двигательной активности ($H=3.1$,

$p=0.22$; пересечения, соответственно, 11 ± 2 , 15 ± 4 , 16 ± 2) и по числу стоек ($F_{(2, 24)}=0.3$, $p =0.8$; значения, соответственно, 2.7 ± 1.2 , 4.2 ± 1.8 , 3.1 ± 1.1)(рис. 18).

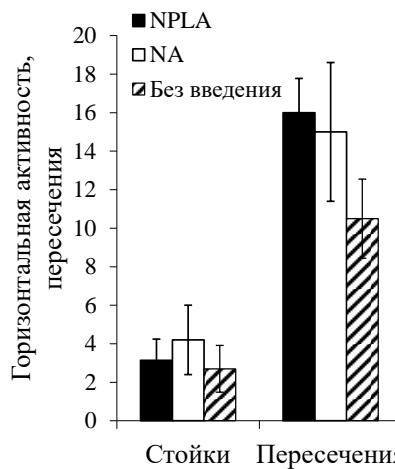


Рисунок 18. Уровень исследовательской активности в новой круглой камере животных с введениями в mPFC 2мM NPLA (NPLA), 0.5 мM NA (NA) и животных без введений препаратов (Без введения).

На второй экспериментальный день у животных групп «NA», «NPLA» и «Без введения» фоновые уровни серотонина перед поведенческим тестированием составляли 0.25 ± 0.01 нМ, 0.24 ± 0.01 нМ и 0.20 ± 0.08 нМ, соответственно, и не отличались от фоновых уровней серотонина у животных этих же групп в первый день экспериментов ($t=1.33$, $p=0.2$; $t=0.93$, $p=0.37$; $t=0.16$, $p=0.87$ соответственно). Это свидетельствует об отсутствии отсроченных влияний NA и NPLA на выброс серотонина в mPFC на этапе тестирования.

Сравнение поведения животных в приподнятом крестообразном лабиринте через сутки после выработки УРС (экспериментальный день 2, перед началом тестирования на генерализацию и реализацию УРС) тоже не выявило достоверных различий между крысами групп «NA», «NPLA» и «Без введения» по времени пребывания (рис.19 a) в открытых ($H=0.01$, $p=0.99$) и закрытых ($H=0.004$, $p=0.99$) рукавах лабиринта, а также по горизонтальной двигательной активности (рис.19 b) в открытых ($F_{(2, 24)}=2.5$, $p=0.1$) и закрытых ($F_{(2, 24)}=2.9$, $p=0.08$) рукавах лабиринта.

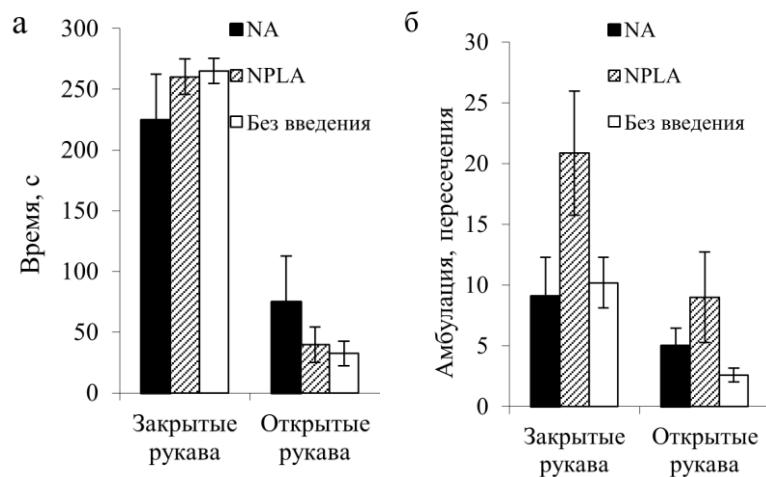


Рисунок 19. Время пребывания (а), сек и количество пересечений границ секторов (б) в закрытых и открытых рукавах крестообразного лабиринта у крыс с введениями в mPFC 2мM NPLA (NPLA), 0.5 мM NA (NA) и у животных без введений препаратов (Без введения).

В ходе тестирования животных на проявления генерализованного страха через сутки после выработки УРС (дифференцировка 2, экспериментальный день 2) животные группы «NA» и «NPLA» меньше замирали на CS- по сравнению с крысами группы «Без введения» (рис.17б; соответственно, $t=2.1$, $p=0.049$ и $t=4.8$, $p<0.001$), что свидетельствует о быстром угасании у них проявлений генерализации УРС. При этом между группами «NA» и «NPLA» не было выявлено различий по времени замирания на CS- ($t = 1.9$, $p = 0.07$).

В teste реализация УРС (экспериментальный день 2) животные группы «NA» и «NPLA» не различались между собой по длительности замирания на CS+ ($U=43.0$, $p = 0.5$) и не отличались по этому показателю от крыс группы «Без введения» (рис. 17б; соответственно, $t=1.2$, $p=0.2$ и $t=0.7$, $p=0.5$).

Не было обнаружено различий в порогах чувствительности к электрокожному раздражению крыс, не подвергавшихся (группа «Без введения») и подвергавшихся (группы «NA» и «NPLA») в течение 75 мин введениям в mPFC 0.5 мM NA и 2мM NPLA (рис. 20; $F_{(2, 16)}=0.14$, $p=0.9$).

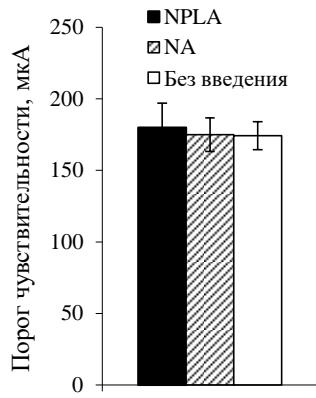


Рисунок 20. Порог чувствительности к электрокожному раздражению, мкА, у крыс с введениями в mPFC 2мМ NPLA (NPLA), 0.5 мМ NA (NA) и у животных без введений препаратов (Без введения).

Эксперименты с экзогенной активацией нитрергической системы mPFC

Фоновый уровень внеклеточного серотонина в диализате mPFC составлял у животных группы «DEA NONO» 0.20 ± 0.02 нМ, а у крыс группы «Без введения» – 0.20 ± 0.01 нМ.

Животные экспериментальных групп не различались перед началом экспериментов по активности в teste «Открытое поле». Горизонтальная активность: группа «DEA NONO» – 52 ± 13 пересечения; группа «Без введения» – 49 ± 12 пересечения; ($t = 0.05$; $p = 0.97$). Стойки: группа «DEA NONO» – 10 ± 2 , группа «Без введения» – 5 ± 2 ; ($t = 1.6$; $p = 0.13$).

Данные для группы «Без введения», описывающие изменение уровня внеклеточного серотонина входе выработки УРС приведены ранее (стр. 60).

Введение в mPFC перед выработкой УРС 1 мМ DEA вызывало временный (30 мин) подъем уровня внеклеточного серотонина в mPFC (максимум $136 \pm 10\%$) относительно фона перед введением (рис. 21; $F_{(7,56)} = 10.7$, $p < 0.001$). Затем уровень внеклеточного серотонина mPFC постепенно снижался (рис. 21; $F_{(11,88)} = 9.2$, $p < 0.001$) и в конце первого дня экспериментов становился ниже фоновых значений ($80 \pm 6\%$; $t = 3.9$; $p < 0.01$). Корреляционный анализ, охватывающий весь период введения препарата, подтвердил отрицательную корреляционную зависимость между уровнем внеклеточного серотонина в mPFC и временем от начала введения DEA в эту область ($r = -0.58$; $p < 0.001$).

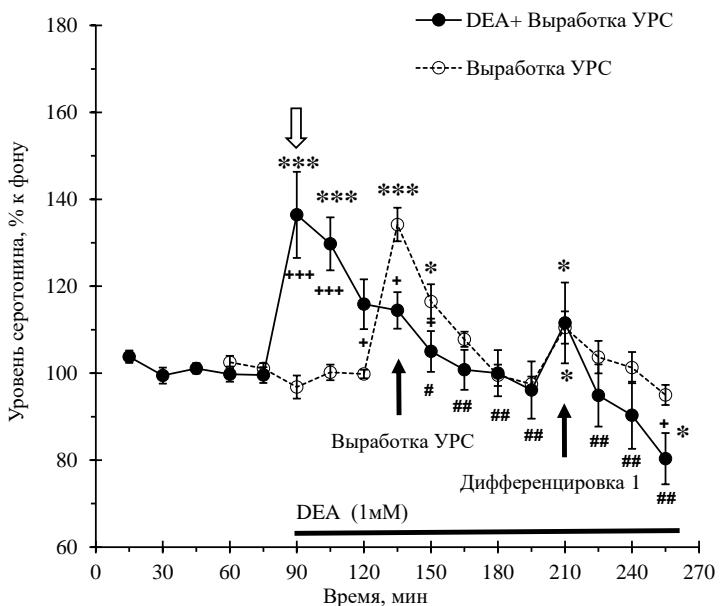


Рисунок 21. Изменения уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе выработки УРС и дифференцировочной сессии 1 у животных с введением в mPFC 1 мМ DEA (DEA + Выработка УРС) и у крыс без введения этого препарата (Выработка УРС). Разброс на графиках – ошибка среднего; черные стрелки – начало тестов; горизонтальная линия – период введения DEA. * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; + – $p < 0.05$; +++ – $p < 0.001$ – при межгрупповом сравнении. # – $p < 0.05$; ## – $p < 0.001$ – при сравнении с уровнем серотонина непосредственно перед тестом выработкой УРС у животных с введением DEA.

Выработка УРС у животных группы «DEA NONO», осуществляемая на фоне введения в mPFC 1мM DEA, не вызывала изменений уровня внеклеточного серотонина в mPFC относительно этого показателя непосредственно перед тестом (рис. 21; $t = 0.19$; $p = 1.00$, t -критерий Бонферрони), а также по сравнению с фоновым уровнем серотонина перед введением препарата ($t = 2.1$; $p = 1.00$). Дифференцировочная сессия 1 у животных с введениями 1 мМ DEA тоже не приводила к изменениям уровня серотонина в mPFC относительно этого показателя перед тестом (рис. 19; $t = 2.0$; $p = 1.00$) и перед введением DEA (рис. 21; $t = 1.7$; $p = 1.00$). По данным двухфакторного дисперсионного анализа, подъём уровня внеклеточного серотонина во время выработки УРС у животных группы «DEA NONO» был ниже, чем у крыс группы «Без введения» (рис. 21; $F_{(13,238)} = 5.8$, $p < 0.001$).

В целом, эти данные показывают, что введение 1 мМ DEA в mPFC в ходе обучения снижают подъем уровня внеклеточного серотонина в этой области, вызываемый выработкой УРС.

Анализ поведения животных во время выработки УРС показал, что крысы группы «DEA NONO» меньше замирали на CS+ (рис. 22 a ; $t = 2.8; p = 0.013$) и проявляли большую горизонтальную активность (рис. 22 b ; $U=9.0, p = 0.004$) по сравнению с крысами группы «Без введения», но при этом животные обеих групп не отличались друг от друга по количеству совершённых стоек (рис. 22 c ; $U=29.0, p = 0.2$). Во время дифференцировки 1 (тест на первоначальную генерализацию) не было выявлено различий между группами «DEA NONO» и «Без введения» по времени замирания на CS- (рис. 25 a , $p = 0.19$).

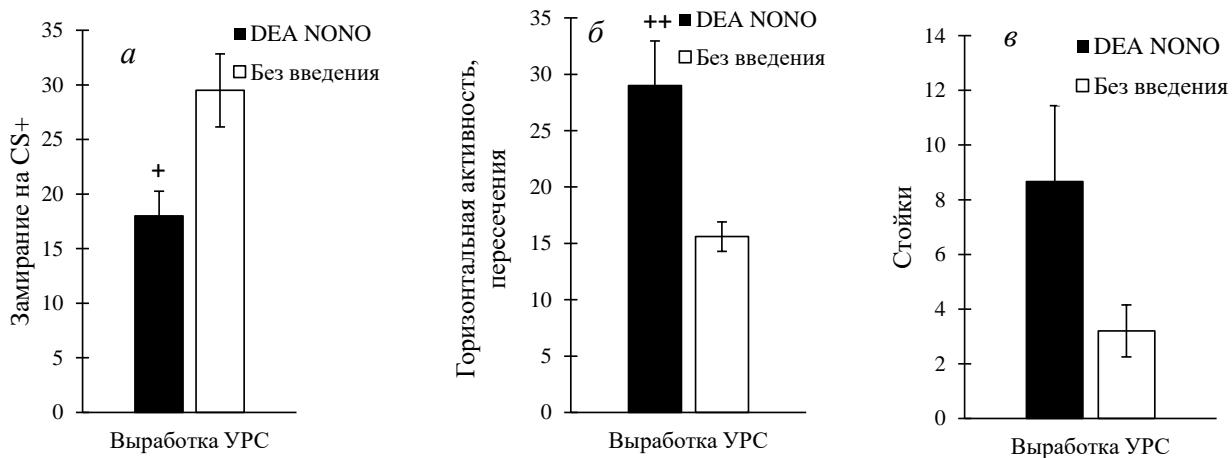


Рисунок 22. (а) Длительность замирания на CS+, сек; (б) амбуляция, пересечения; (в) число стоек во время выработки УРС у крыс с введениями в mPFC 1 mM DEA (DEA NONO) и у животных, не подвергавшихся введениям препаратов (Без введения). + – $p < 0.05$, ++ – $p < 0.05$ – при сравнении с животными без введения препаратов.

В конце экспериментального дня 1 не было обнаружено различий по двигательной активности в новой круглой камере между животными групп «Без введения» и «DEA NONO» (рис. 23; $U=114, p=0.055$; пересечения, соответственно: $11\pm2, 13.6\pm1.6$) и по числу стоек (рис. 23; $U=84, p=0.65$; значения, соответственно: $2.7\pm1.2, 1.8\pm0.9$).

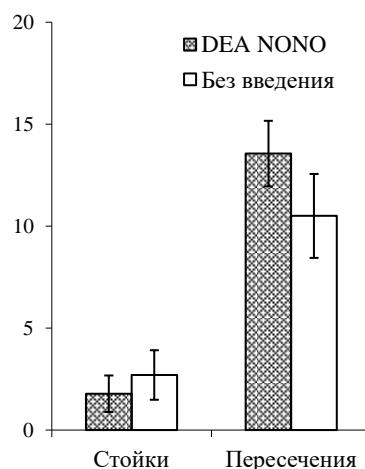


Рисунок 23. Исследовательская активность в новой круглой камере животных с введениями в mPFC 1 mM DEA (DEA NONO) и у животных без введений препаратов (Без введения).

Фоновый уровень серотонина на второй экспериментальный день составлял у крыс группы «DEA NONO» 0.20 ± 0.02 нМ, у крыс группы «Без введения» 0.20 ± 0.08 нМ. Для каждой из групп не было различий по этому показателю между первым и вторым днями эксперимента ($t = 0.77, p = 0.45$; $t=0.16, p=0.87$ соответственно), что свидетельствует об отсутствии отсроченного действия 1мM DEA на выброс серотонина в mPFC на этапе тестирования.

Тестирование животных обеих групп в крестообразном лабиринте, проводимое на следующий день после выработки УРС показало, что крысы группы «DEA NONO», подвергавшиеся накануне введению в mPFC 1 мМ DEA, не отличаются от крыс группы «Без введения» по времени пребывания в закрытых (рис. 24а; $U = 84, p = 0.653$) и открытых рукавах лабиринта (рис. 24а; $U = 96, p = 0.653$), а также по амбулации (рис. 24б; $U = 82, p = 0.539$) и вертикальной активности (рис. 24в; $t = 1.2, p = 0.24$) в закрытых рукавах. Однако крысы группы «DEA NONO» демонстрировали большую горизонтальную (рис. 24б, $U = 114.5, p = 0.048$) и вертикальную исследовательскую активность в открытых рукавах лабиринта (рис. 24в, $t = 2.1, p = 0.047$).

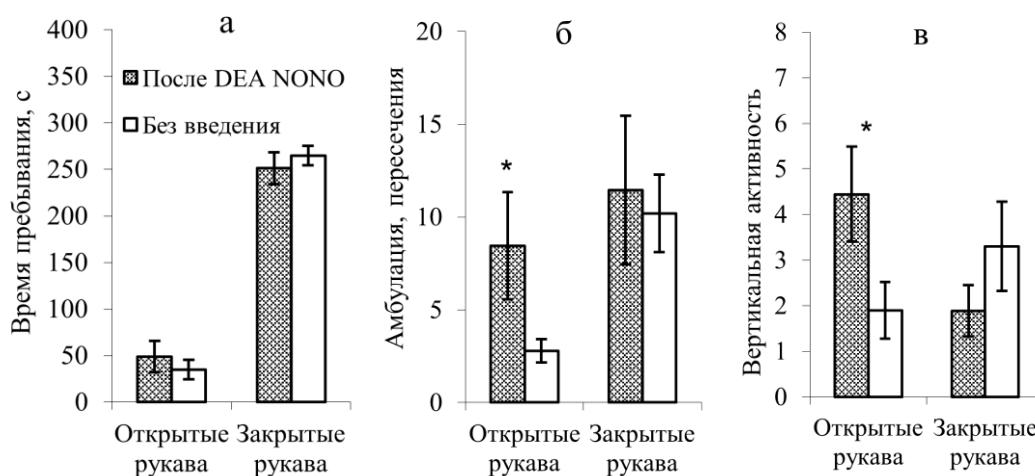


Рисунок 24. Исследовательская активность животных в приподнятом крестообразном лабиринте. *а* – время пребывания (с), *б* – амбулация (пересечения), *в* – вертикальная активность (свещивания/стойки) в открытых и закрытых рукавах крестообразного лабиринта животных, подвергавшихся (после DEA NONO) и не подвергавшихся (Без введения) во время выработки УРС введению в mPFC 1 мМ DEA. * – $p < 0.05$ – при сравнении с этим показателем у животных группы «Без введения».

Анализ поведения животных в ходе тестирования на проявления генерализованного страха (дифференцировка 2, экспериментальный день 2) показал, что крысы группы «DEA NONO» характеризуются меньшей длительностью замирания на безопасный дифференцировочный сигнал (CS-) (рис. 25б; $U=74; p = 0.02$) по сравнению с крысами группы «Без введения». Однако в ходе реализации УРС животные групп «DEA NONO» и

“Без введения” не различались по уровню замирания на потенциально опасный условный сигнал (CS+) (рис. 25 ε ; $t = 0.008$; $p = 0.99$).

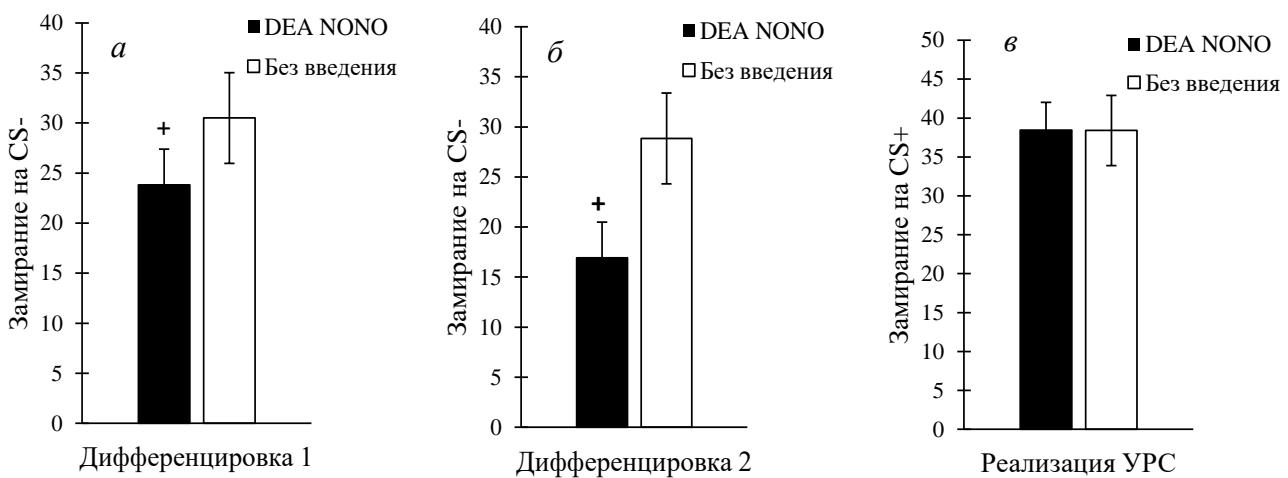


Рисунок 25. Длительность замирания на CS- во время дифференцировки 1 (a) и во время дифференцировки 2 ($б$), а также длительность замирания на CS+ в ходе реализации УРС ($в$) у крыс, подвергавшихся в первый день экспериментов введением в mPFC 1 мМ DEA (DEA NONO) и у животных без введений препаратов (Без введения). + – $p < 0.05$ – при сравнении с животными без введения препарата.

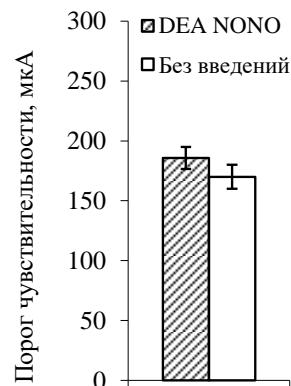


Рисунок 26. Порог чувствительности к электрокожному раздражению, мкА, у крыс с введениями в mPFC DEA (DEA NONO) и у животных без введения препарата (Без введений).

Порог чувствительности к электрокожному раздражению крыс с введением в mPFC в течение 45 мин 1 мМ DEA составил 186 ± 9 мкА, что не отличалось значимо от величины этого показателя у животных без введения препарата (рис. 26; 170 ± 10 мкА; $t = 1.1$; $p = 0.28$).

Сравнение уровней внеклеточного серотонина во время выработки УРС при введении в mPFC 1 мМ DEA, 0.5 мМ NA и 2 мМ NPLA

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил значимые различия по изменениям

уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе выработки УРС между группами «DEA NONO» и «NPLA» ($F_{(16, 238)}=4.7, p<0.001$) и между группами «DEA NONO» и «NA» ($F_{(16, 289)}=8.4, p<0.001$). Эти различия наблюдались на фоне введения препаратов (3 временных точки эксперимента – 90 мин, 105 и 120) перед выработкой УРС. А именно, в этом временном окне уровень серотонина у животных группы «DEA NONO» был значимо выше, чем этот показатель у крыс групп «NPLA» и «NA» (рис. 27). Вместе с тем, не было выявлено различий в уровне внеклеточного серотонина между группами «DEA NONO» и «NPLA» ($t=1.11, p=0.23$), а также «DEA NONO» и «NA» ($t=1.59, p=0.11$) во время выработки УРС (временная точка – 135 мин), а также в большинстве временных точек после выработки УРС (см. рис. 27 и 28).

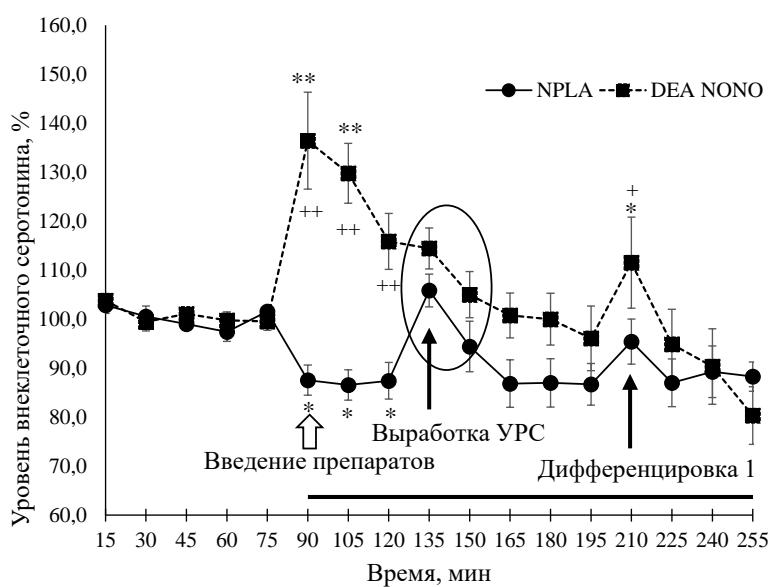


Рисунок 27. Изменения уровня внеклеточного серотонина у животных с введениями в mPFC 1 mM DEA (DEA NONO) и 2 mM NPLA (NPLA). Разброс на графиках – ошибка среднего; горизонтальная линия – период введения препарата; белая стрелка – начало введения препарата; черные стрелки – начало тестов; эллипсом выделен период выработки УРС, в котором пропадают межгрупповые различия в уровне внеклеточного серотонина; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоновыми значениями + – $p < 0.05$; ++ – $p < 0.001$ – при межгрупповом сравнении.

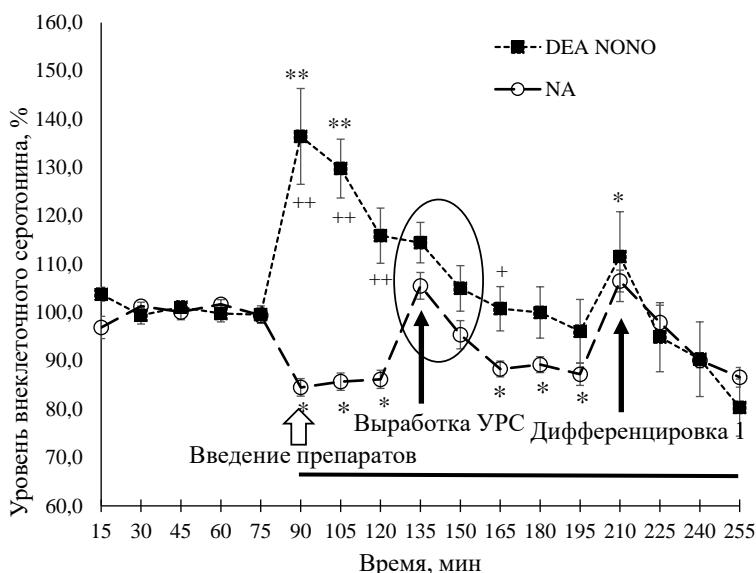


Рисунок 28. Изменения уровня внеклеточного серотонина у животных с введениями в mPFC 1 mM DEA (DEA NONO) и 0.5 mM NA (NA). Остальные обозначения как на рис. 24.

Обсуждение результатов главы 3.2

Работы, ранее проводимые моими коллегами, продемонстрировали участие двух нейромодуляторных систем mPFC, нитрергической и серотонинергической, в процессах генерализации УРС. А именно, ими было показано, что выработка УРС активирует образование NO в mPFC (Саульская, Судоргина 2015) и вызывает выброс серотонина в этой области (Саульская, Марчук 2018). Более того, было продемонстрировано, что серотониновая активация mPFC, наблюдаемая во время выработки УРС и оцениваемая по уровню внеклеточного серотонина в этой области, положительно коррелирует со степенью генерализации УРС на следующий день после выработки УРС (дифференцировка 2). Был сделан вывод, что величина подъема уровня внеклеточного серотонина в mPFC во время выработки УРС влияет на последующую генерализацию этой условной реакции – чем выше уровень серотонина во время выработки УРС, тем сильнее будут через сутки проявления генерализации страха (Саульская, Марчук 2018). Этот вывод позже подтвердили данные, показавшие, что увеличение уровня внеклеточного серотонина в mPFC введением в эту область во время выработки УРС флуоксетина, ингибитора обратного захвата серотонина, селективно усиливает генерализацию УРС через сутки после ее выработки (Саульская, Марчук 2019). С другой стороны, было продемонстрировано (Саульская, Судоргина 2015), что вызываемая выработкой УРС нитрергическая активация mPFC негативно коррелирует с величиной первоначальной генерализации УРС (дифференцировка 1) и полностью предотвращается введением в mPFC NPLA, ингибитора nNOS.

Основным результатом настоящей работы явились данные, впервые показавшие, что такая естественная нитререгическая активация mPFC участвует в регуляции выброса серотонина в этой области, вызываемого выработкой УРС, и влияет на выраженность генерализации УРС не только в день ее выработки (что было подтверждено), но и через сутки, то есть, тогда же и так же, как и естественная серотониновая активация mPFC, запускаемая выработкой УРС.

А именно, результаты, представленные в этой главе, демонстрируют, что в mPFC эндогенный NO оказывает активационные влияния на базальную и вызванную выработкой УРС активность серотониновой системы этой области, оцениваемую по изменениям уровня внеклеточного серотонина, поскольку блокада нитрергической нейропередачи в mPFC во время выработки УРС локальными введениями ингибитора NOS NA снижает оба эти показателя. Такие эндогенные нитрергические влияния в основном обусловлены активностью nNOS, так как введения в mPFC NPLA, селективного ингибитора nNOS, оказывает аналогичное действие на уровень внеклеточного серотонина в mPFC в ходе выработки УРС.

Анализ поведения животных показал, что блокада продукции NO в mPFC введениями NA и NPLA во время выработки УРС сопровождается увеличением времени замирания животных на дифференцировочный сигнал (CS-) в тесте дифференцировка 1, то есть усиливает первоначальную генерализацию УРС в день ее выработки. Эти результаты соответствуют данным моих коллег, приведенным выше (Саульская, Судоргина 2015).

Новым результатом работы явились данные, свидетельствующие, что животные, подвергавшиеся введениям в mPFC NA и NPLA во время выработки УРС, демонстрируют через сутки (т.е. после консолидации памяти о страхе) селективное снижение генерализации УРС (дифференцировка 2). Это проявлялось в уменьшении замирания животных на безопасный дифференцировочный сигнал (CS-), но не на опасный условный сигнал (CS+). Результаты этой серии позволяют предположить, что введения NA и NPLA в mPFC во время выработки УРС ускоряют угасание генерализованного страха. Такой эффект введений NA и NPLA в mPFC, возможно, связан с нарушением процессов консолидации памяти о генерализованном страхе под влиянием этих препаратов. Это предположение поддерживает литературные данные, свидетельствующие об участии NO в ЦНС в консолидации памяти об угасании страха (Sadeghi et al. 2022), а также об участии NO в синаптической пластичности в mPFC (Noriega-Prieto et al. 2019).

Следует подчеркнуть, что показанные поведенческие эффекты NA и NPLA, наблюдаемые в день выработки УРС и на этапе тестирования через сутки, не являются следствием изменений под действием этих препаратов подвижности животных в первый и

второй дни эксперимента, их чувствительности к электрокожному раздражению и тревожности. Об этом свидетельствует отсутствие изменений двигательной активности животных в новой камере (1-ый день экспериментов) и в крестообразном лабиринте (2-ой день экспериментов), а также неизменность показателей тревожности в крестообразном лабиринте (время в открытом и закрытом рукавах лабиринта, 2-ой день экспериментов) и порога болевой чувствительности у животных с введением NA и NPLA в mPFC (см. рис. 18, 20).

Поскольку введения NA и NPLA в этих экспериментах сопровождались снижением уровня внеклеточного серотонина в mPFC (рис. 14, 15), а также учитывая упомянутые ранее результаты работ моих коллег о прямой корреляции уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе выработки УРС с величиной последующей генерализации страха (Саульская, Марчук 2018), мы предполагаем, что показанное в этой работе тормозное влияние блокады нитрергической передачи в mPFC во время выработки УРС на генерализацию страха через сутки может быть связано со снижением выброса серотонина в mPFC во время выработки УРС, вызванным введениями NA и NPLA.

Эти данные, полученные в условиях локальной блокады NOS и nNOS, подразумевают, что в mPFC эндогенный NO действует противоположным образом на изучаемые процессы, а именно увеличивает выброс серотонина во время выработки УРС и, возможно, за счет этого усиливает генерализацию УРС через сутки. Это предположение базируется, во-первых, на результатах наших фармакологических тестов, приведенных выше в разделе 3.1 (рис. 13), свидетельствующих об активационных влияниях эндогенного NO mPFC на выброс серотонина в этой области и, во-вторых, на уже упомянутых данных об усилии формирования и/или консолидации генерализованного страха у крыс с увеличенным уровнем внеклеточного серотонина в mPFC в результате введения в эту область ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина (Саульская, Марчук 2019).

Вместе с тем, экзогенная нитрергическая стимуляция mPFC введением в эту область донора NO DEA действует по-другому. А именно, длительное (210 мин) введение DEA (1 мМ) оказывает двухфазный эффект на активность серотониновой системы этой области: первоначальное кратковременное (30 мин) повышение уровня внеклеточного серотонина в mPFC с последующим постепенным снижением. Полученный результат согласуется с эффектами длительного введения DEA в mPFC в нарастающих концентрациях (см. рис. 11), приведенными в разделе 3.1. Согласно данным литературы, NO может регулировать высвобождение серотонина посредством разнообразных механизмов. Причем такие влияния могут быть как активационными, так и тормозными в зависимости от концентрации NO-донора и области мозга, что связывают с многообразием мишней NO

(Kiss 2000). Показанное в настоящей работе снижение базального уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе длительного введения 1мM DEA NONO может быть обусловлено, например, десенситизацией растворимой гуанилатциклазы, основной мишени NO, в результате ее нитрозилирования (Sayed et al. 2007).

Каковы бы ни были причины такого нарастающего тормозного эффекта экзогенного NO на выброс серотонина в mPFC, следует подчеркнуть, что выработка УРС, проводимая на фоне введения донора NO, сопровождалась почти полным торможением функционального выброса серотонина в mPFC, вызываемого выработкой УРС. В отличие от этого, введение ингибиторов NOS и nNOS в mPFC, быстро снижающее базальный выброс серотонина в этой области, не предотвращало функциональный подъем этого показателя во время выработки УРС. При этом суммарный эффект экзогенного NO на выброс серотонина в mPFC на этапе выработки УРС и после нее был статистически не отличим от влияния введений ингибиторов NOS и nNOS на этот показатель, а также не отличим от фоновых значений уровня серотонина перед фармакологическими воздействиями. А именно, сравнение изменений уровня внеклеточного серотонина в mPFC в ходе выработки УРС у крыс с введениями NO-донора и ингибиторов NOS и nNOS продемонстрировало отсутствие различий по уровню серотонина во время выработки УРС, а также в большинстве временных точек после выработки УРС у животных с введением DEA, и у крыс с введением NA или NPLA (см. рис. 27, 28). Такое сходство действия всех трех препаратов на уровень серотонина во время выработки УРС (но не на этот показатель перед выработкой) (см. рис. 27, 28), видимо, является причиной односторонних поведенческих эффектов их введений, наблюдавшихся спустя сутки, а именно, торможения генерализации УРС. Этот результат еще раз подтверждает вывод моих коллег (Саульская, Марчук 2018), что сниженный уровень серотониновой активации mPFC на этапе формирования УРС может быть предпосылкой ослабления генерализации этой условнорефлекторной реакции через сутки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленные литературные данные, полученные на основе экспериментов с использованием УРС, освещают роль mPFC в различных аспектах страха (Burgos-Robles et al. 2009; Corcoran, Quirk 2007; Guhn et al. 2014; Milad, Quirk 2002; Vidal-Gonzalez et al. 2006), включая генерализацию УРС (Asok et al. 2019; Lopresto et al. 2016; Lee, Choi 2012; Xu, Südhof 2013). Известен вклад ряда нейромодуляторных систем данной корковой области, в том числе нитрергической (Саульская, Судоргина 2015; Судоргина, Саульская 2015) и серотонинергической (Саульская, Марчук 2018; Саульская, Марчук 2019), в эти процессы.

Важный результат настоящей работы заключается в том, что в ней впервые продемонстрировано активационное влияние эндогенного NO в mPFC на базальный выброс серотонина в этой области, о чем свидетельствует снижение уровня внеклеточного серотонина в этой области при введении в mPFC ингибитора NOS.

Еще одним важным результатом работы являются данные об активационной роли эндогенного NO нейронного происхождения в регуляции выброса серотонина в mPFC во время выработки УРС и о возможной роли такой регуляции в генерализации УРС.

Ранее упоминалось, что выработка УРС сопровождается подъёмом уровня внеклеточного серотонина в mPFC, и такой подъём положительно коррелирует со степенью будущей генерализации страха. Эти результаты, рассмотренные вместе с данными, полученными в настоящем исследовании, свидетельствуют, что одним из механизмов NO-зависимого контроля генерализации страха могут быть активационные влияния эндогенного NO на серотониновую систему mPFC в ходе выработки УРС.

Полученные в работе новые данные о локальных активационных влияниях эндогенного NO нейронного происхождения на вызываемую выработкой УРС активность серотониновой системы mPFC и на генерализацию этой условнорефлекторной реакции вносят вклад в понимание нейрохимических и структурных механизмов формирования генерализованного страха. Результаты работы могут быть учтены при разработке подходов, направленных на коррекцию расстройств, сопровождающихся проявлениями генерализованного страха.

ВЫВОДЫ

1. Введение в mPFC субстрата NOS аргинина (1 мМ, 5 мМ) сопровождается увеличением уровня внеклеточного серотонина в mPFC.
2. Блокада продукции NO в mPFC введениями ингибитора NOS NA (0.5 мМ) снижает уровень внеклеточного серотонина в этой области, а также к уменьшает подъём этого показателя, вызванный введением флуоксетина, ингибитора обратного захвата серотонина. Таким образом, серотониновая система mPFC находится под тоническими активационными влияниями эндогенного NO.
3. Введения в mPFC донора NO (DEA; 0.1, 0.5 и 1 мМ) приводят к дозозависимому повышению уровня внеклеточного серотонина в mPFC в первые 15 мин введения, а в концентрации 2.5 мМ (после длительного введения более низких концентраций) и в концентрации 3 мМ, напротив, быстро снижает этот показатель. То есть знак и выраженность влияний такой экзогенной нитрергической стимуляции mPFC на уровень серотонина зависит от дозы донора NO и длительности его введения.

4. Введения в mPFC ингибиторов nNOS (NPLA 2mM) или NOS (NA 0.5mM) в ходе выработки УРС снижают базальный уровень внеклеточного серотонина в mPFC и его функциональный подъём, вызываемый выработкой УРС, а также селективно уменьшают через сутки проявления ее генерализации (замирание на безопасный CS, но не потенциально опасный CS+). Это означает, что основным источником нитрергической регуляции базального и функционального высвобождения серотонина в mPFC является эндогенный NO нейронного происхождения, оказывающий активационное влияние на эти показатели при выработке УРС и усиливающий ее последующую генерализацию.
5. Длительное введение в mPFC донора NO (DEA, 1 мМ) вызывает кратковременное увеличение уровня внеклеточного серотонина в mPFC с последующим постепенным снижением этого показателя и на фоне такого снижения уменьшает функциональный подъём уровня внеклеточного серотонина в mPFC, вызываемый выработкой УРС, а также снижает через сутки генерализацию УРС. То есть длительная экзогенная нитрергическая стимуляция mPFC тормозит функциональную активацию серотиновой системы этой области коры во время выработки УРС и может оказывать тормозное влияние на степень ее последующей генерализации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров В. Г., Губаревич Е. А., Кокурина Т. Н., Рыбакова Г. И., Туманова Т. С. Орбитофронтальная кора в системе центрального управления автономными функциями// Успехи физиологических наук – 2022. – Т.53. №3. – С. 45–53.
2. Александров В. Г., Губаревич Е. А., Туманова Т. С., Кокурина Т. Н., Маркова А. Ю., Рыбакова Г. И. Влияние электростимуляции орбитофронтальной коры на систему кровообращения анестезированной крысы// Интегративная физиология– 2021. – Т. 2. – №3. – С. 297 – 306.
3. Зайцев А. В. Классификация и функции ГАМКергических интернейронов новой коры млекопитающих// Биологические мембранны. – 2013. – Т. 30. – №4. – С. 253 – 270.
4. Кудрявцева Н. Н. Серотонергический контроль агрессивного поведения: новые подходы – новые интерпретации (обзор)// Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. – 2015. – Т. 65. – № 5. – С. 546 – 563.
5. Любашина О.А., Ноздрачёв А.Д. NO-зависимые механизмы амигдалокортикальных влияний // Доклады Академии наук. – 2008. Т. 421. – № 2. – С. 282-285.

6. Правикова П. Д., Москалюк В. С., Базовкина Д. В., Кожемякина Р. В., Науменко В. С. Модуляторы серотониновой системы мозга крыс с генетически детерминированной агрессией по отношению к человеку или ее отсутствием// Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.– 2024. – Т. 110. – № 12. – С. 1902 – 1920.
7. Саульская Н. Б. Генерализация страха в моделях на животных: нейрофизиологические механизмы и возможные мишени коррекции// Успехи физиологических наук. – 2018. – Т.49. №4. – С. 12–29.
8. Саульская Н. Б., Марчук О. Э. Активность серотониновой системы префронтальной коры мозга у крыс с высокой и низкой генерализацией страха// Росс. физiol. журн. им. И. М. Сеченова. – 2018. – Т. 104. – №4.– С. 466 – 476.
9. Саульская Н. Б., Марчук О. Э. Торможение обратного захвата серотонина в медиальной префронтальной коре во время выработки условнорефлекторной реакции страха способствует формированию генерализованного страха. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова – 2019. – Т. 69 № 3. – С. 343 – 353.
10. Саульская Н. Б., Марчук О. Э., Пузанова М. А., Трофимова Н. А. Активация серотониновой системы медиальной префронтальной коры звуковыми сигналами опасности// Нейрохимия. – 2020. – Т. 37 № 4. – С. 350 – 357.
11. Саульская Н. Б., Судоргина П. В. Активность нитрергической системы медиальной префронтальной коры крыс с высокой и низкой генерализацией условнорефлекторной реакции страха// Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. – 2015. – Т.65. №3. – С. 372–381
12. Судоргина П. В., Саульская Н. Б. Звуковые сигналы опасности активируют нитрергическую систему медиальной префронтальной коры// Росс. физiol. журн. им. И. М. Сеченова. – 2015. – Т.101. №7. – С. 778–788.
13. van Aerde K. I., Feldmeyer D. Morphological and physiological characterization of pyramidal neuron subtypes in rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2015, vol. 25, no. 3, pp. 788 – 805
14. van Aerde K. I., Heistek T. S., Mansvelder H. D. Prelimbic and infralimbic prefrontal cortex interact during fast network oscillations. *PLoS One*. 2008, vol. 3, no. 7.
15. Agnati L. F., Guidolin D., Guescini M., Genedani S., Fuxe K. Understanding wiring and volume transmission. *Brain Res Rev*. 2010, vol. 64, no. 1, pp.137–59.
16. Agster K. L., Burwell R. D. Cortical efferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Hippocampus*. 2009, vol. 19, no. 12, pp.1159–1186.
17. Akhter F., Haque T., Sato F., Kato T., Ohara H., Fujio T., Tsutsumi K., Uchino K., Sessle B. J., Yoshida A. Projections from the dorsal peduncular cortex to the trigeminal subnucleus

- caudalis (medullary dorsal horn) and other lower brainstem areas in rats. *J. Neurosci.* 2014, vol. 266, pp. 23–37.
18. Almada R. C., Coimbra N. C., Brandao M. L. Medial prefrontal cortex serotonergic and GABAergic mechanisms modulate the expression of Contextual fear: intratelencephalic pathways and differential involvement of cortical subregions. *J. Neurosci.* 2015, vol. 284, no. 11, pp. 988–997.
 19. Almada R. C., Borelli K. G., Albrechet-Souza L., Brandão M. L. Serotonergic mechanisms of the median raphe nucleus-dorsal hippocampus in conditioned fear: Output circuit involves the prefrontal cortex and amygdala. *Behav Brain Res.* 2009, vol. 203, no. 2, pp. 279–287.
 20. Amargós-Bosch M., Bortolozzi A., Puig M. V., Serrats J., Adell A., Celada P., Toth M., Mengod G., Artigas F. Co-expression and in vivo interaction of serotonin_{1A} and serotonin_{2A} receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *Cereb Cortex.* 2004, vol. 14, no. 3, pp. 281–299.
 21. Amat J., Baratta M. V., Paul E., Bland S. T., Watkins L. R., Maier S. F. Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus. *Nat Neurosci.* 2005, vol. 8, no. 3, pp. 365–371.
 22. Amat J., Aleksejev R. M., Paul E., Watkins L. R., Maier S. F. Behavioral control over shock blocks behavioral and neurochemical effects of later social defeat. *Neuroscience.* 2010, vol. 165, no. 4, pp. 1031–1038.
 23. Amat J., Matus-Amat P., Watkins L. R., Maier S. F. Escapable and inescapable stress differentially alter extracellular levels of 5-HT in the basolateral amygdala of the rat. *Brain Res.* 1998, vol. 812, no. 1-2, pp. 113–120.
 24. Anastasiades P. G., Carter A. G. Circuit organization of the rodent medial prefrontal cortex. *Trends Neurosci.* 2021, vol. 44, no. 7, pp. 550–563.
 25. Andrade R., Huereca D., Lyons J. G., Andrade E. M., McGregor K. M. 5-HT_{1A} receptor-mediated autoinhibition and the control of serotonergic cell firing. *ACS Chem Neurosci.* 2015, vol. 6, no. 7, pp. 1110–1115.
 26. Andrews P. W., Bharwani A., Lee K. R., Fox M., Thomson J. A. Is serotonin an upper or a downer? The evolution of the serotonergic system and its role in depression and the antidepressant response. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015, vol. 51, pp. 164–188.
 27. Angoa-Pérez M., Kuhn D. M. Neuroanatomical dichotomy of sexual behaviors in rodents: a special emphasis on brain serotonin. *Behav Pharmacol.* 2015, vol. 26, no. 6, pp. 595–606.
 28. Apergis-Schoute J., Pinto A., Paré D. Ultrastructural organization of medial prefrontal inputs to the rhinal cortices. *Eur J Neurosci.* 2006, vol. 24, no. 1, pp. 135–144.

29. Arancio O., Kiebler M., Lee C. J., Lev-Ram V., Tsien R. Y., Kandel E. R., Hawkins R. D. Nitric oxide acts directly in the presynaptic neuron to produce long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. *Cell*. 1996, vol. 87, no. 6, pp. 1025–1035.
30. Arnsten A. F. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nat Rev Neurosci*. 2009, vol. 10, no. 6, pp. 410–422.
31. Artigas F. The prefrontal cortex: a target for antipsychotic drugs. *Acta Psychiatr Scand*. 2010, vol. 121, no. 1, pp. 11–21.
32. Asede D., Doddapaneni D., Bolton M. M. Amygdala intercalated cells: gate keepers and conveyors of internal state to the circuits of emotion. *J Neurosci*. 2022, vol. 42, no. 49, pp. 9098–9109.
33. Asok A., Kandel E. R., Rayman J. B. The neurobiology of fear generalization. *Front Behav Neurosci*. 2019, vol. 12, no. 29.
34. Awad W., Ferreira G., Maroun M. Dissociation of the role of infralimbic cortex in learning and consolidation of extinction of recent and remote aversion memory. *Neuropsychopharmacology*. 2015, vol. 40, no. 11, pp. 2566–2575.
35. Baratta M. V., Kodandaramaiah S. B., Monahan P. E., Yao J., Weber M. D., Lin P. A., Gisabella B., Petrossian N., Amat J., Kim K., Yang A., Forest C. R., Boyden E. S., Goosens K. A. Stress enables reinforcement-elicited serotonergic consolidation of fear memory. *Biol Psychiatry*. 2016, vol. 79, no. 10, pp. 814–822.
36. Barnes N. M., Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function// *Neuropharmacology*. 1999, vol. 38, no. 8, pp. 1083–152.
37. Bast T. Toward an integrative perspective on hippocampal function: from the rapid encoding of experience to adaptive behavior. *Rev Neurosci*. 2007, vol. 18, no. 3-4, pp. 253–281.
38. Bauer E. P. Serotonin in fear conditioning processes. *Behav Brain Res*. 2015, vol. 277, pp. 68–77.
39. Bayer H., Bertoglio L. J. Infralimbic cortex controls fear memory generalization and susceptibility to extinction during consolidation. *Sci Rep*. 2020, vol. 10, no. 1, p. 15827.
40. Beattie D. T., Smith J. A. Serotonin pharmacology in the gastrointestinal tract: a review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2008, vol. 377, no. 3, pp. 181–203.
41. Berger M., Gray J. A., Roth B. L. The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med*. 2009, vol. 60, pp. 35–66.
42. Bergstrom H. C. The neurocircuitry of remote cued fear memory. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016. Vol. 71, pp. 409–417.

43. Berretta S., Pantazopoulos H., Caldera M., Pantazopoulos P., Paré D. Infralimbic cortex activation increases c-Fos expression in intercalated neurons of the amygdala. *Neuroscience*. 2005, vol. 132, no. 4, pp. 943–953.
44. Biró S., Lasztóczki B., Klausberger T. A visual two-choice rule-switch task for head-fixed mice. *Front Behav Neurosci*. 2019, vol. 13, no. 119.
45. Blakely R. D., De Felice L. J., Hartzell H. C. Molecular physiology of norepinephrine and serotonin transporters. *J Exp Biol*. 1994, vol. 196, pp. 263–281.
46. Bland S. T., Hargrave D., Pepin J. L., Amat J., Watkins L. R., Maier S. F. Stressor controllability modulates stress-induced dopamine and serotonin efflux and morphine-induced serotonin efflux in the medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2003, vol. 28, no. 9, pp. 1589–1596.
47. Bloodgood D. W., Sugam J.A., Holmes A., Kash T. L. Fear extinction requires infralimbic cortex projections to the basolateral amygdala. *Transl Psychiatry*. 2018, vol. 8, no. 1, p. 60.
48. Bocchio M., McHugh S. B., Bannerman D. M., Sharp T., Capogna M. Serotonin, amygdala and fear: assembling the puzzle. *Front Neural Circuits*. 2016, vol. 10, p. 24.
49. Bockaert J., Claeysen S., Bécamel C., Dumuis A., Marin P. Neuronal 5-HT metabotropic receptors: fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation. *Cell Tissue Res*. 2006, vol. 326, no. 2, pp. 553–572.
50. Boschert U., Amara D. A., Segu L. Hen R. The mouse 5-hydroxytryptamine1B receptor is localized predominantly on axon terminals. *Neuroscience*. 1994, vol. 58, no. 1, pp. 167–182.
51. Botterill J. J., Khlaifia A., Appings R., Wilkin J., Violi F., Premachandran H., Cruz-Sánchez A., Canella A. E., Patel A., Zaidi S. D., Arruda-Carvalho M. Dorsal peduncular cortex activity modulates affective behavior and fear extinction in mice. *Neuropsychopharmacology*. 2024, vol. 49, no. 6, pp. 993–1006.
52. Bradley S. A., Steinert J. R. Nitric oxide-mediated posttranslational modifications: impacts at the synapse. *Oxid Med Cell Longev*. 2016, 5681036.
53. Brocke B., Armbruster D., Muller J., Hensch T., Jacob C. P., Lesch K. P., Kirschbaum C., Strobel A. Serotonin transporter gene variation impacts innate fear processing: Acoustic startle response and emotional startle. *Mol Psychiatry*. 2006, vol. 11, no. 12, pp. 1106–1112.
54. Burghardt N. S., Bauer E. P. Acute and chronic effects of selective serotonin reuptake inhibitor treatment on fear conditioning: implications for underlying fear circuits. *Neuroscience*. 2013, vol. 247, pp. 253–272.
55. Burghardt N. S., Sullivan G. M., McEwen B. S., Gorman J. M., LeDoux J. E. The selective serotonin reuptake inhibitor citalopram increases fear after acute treatment but reduces fear

- with chronic treatment: a comparison with tianeptine. *Biol Psychiatry*. 2004, vol. 55, no. 12, pp. 1171–1178.
56. Burgos-Robles A., Vidal-Gonzalez I., Quirk G. J. Sustained conditioned responses in prelimbic prefrontal neurons are correlated with fear expression and extinction failure. *J Neurosci*. 2009, vol. 29, no. 26, pp. 8474–8482.
57. Cai X., Gu Z., Zhong P., Ren Y., Yan Z. Serotonin 5-HT_{1A} receptors regulate AMPA receptor channels through inhibiting Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II in prefrontal cortical pyramidal neurons. *J Biol Chem*. 2002, vol. 277, no. 39, pp. 36553–36562.
58. Cardoso R. C., Desa Z. R., Fitzgerald B. L., Moore A., Duhon J., Landar V. A., Clem R. L., Cummings K. A. The mouse dorsal peduncular cortex encodes fear memory. *bioRxiv* [Preprint]. 2024, 2023.07.24.550408.
59. Campos A. C., Piorino E. M., Ferreira F. R., Guimarães F. S. Increased nitric oxide-mediated neurotransmission in the medial prefrontal cortex is associated with the long lasting anxiogenic-like effect of predator exposure. *Behav Brain Res*. 2013, vol 256, pp. 391–397.
60. Carhart-Harris R. L., Nutt D. J. Serotonin and brain function: a tale of two receptors. *J Psychopharmacol*. 2017, vol. 31, no. 9, pp. 1091-1120
61. Celada P., Puig M. V., Casanovas J. M., Guillazo G., Artigas F. Control of dorsal raphe serotonergic neurons by the medial prefrontal cortex: Involvement of serotonin-1A, GABA(A), and glutamate receptors. *J Neurosci*. 2001, vol. 21no. 24, pp. 9917-29.
62. Celada P., Puig M. V., Artigas F. Serotonin modulation of cortical neurons and networks. *Front Integr Neurosci*. 2013, vol. 7, p. 25.
63. Cespuglio R. Serotonin: its place today in sleep preparation, triggering or maintenance. *Sleep Med*. 2018, vol. 49, pp. 31-39.
64. Chachlaki K., Prevot V. Nitric oxide signalling in the brain and its control of bodily functions. *Br J Pharmacol*. 2020, vol. 177, no. 24, pp. 5437-5458.
65. Chanrion B., Mannoury la Cour C., Bertaso F., Lerner-Natoli M., Freissmuth M., Millan M. J., Bockaert J., Marin P. Physical interaction between the serotonin transporter and neuronal nitric oxide synthase underlies reciprocal modulation of their activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007, vol. 104, no. 19, pp. 8119-8124.
66. Cherian J., Kaushik M. K., Ferreira A. N., Sheets P. L. Specific targeting of the basolateral amygdala to projectionally defined pyramidal neurons in prelimbic and infralimbic cortex. *eNeuro*. 2016, vol. 3, no. 2.
67. Chiavegatto S., Dawson V. L., Mamounas L. A., Koliatsos V. E., Dawson T. M., Nelson R. J. Brain serotonin dysfunction accounts for aggression in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001, vol. 98, no. 3, pp. 1277-1281.

68. Cho J. H., Deisseroth K., Bolshakov V. Y. Synaptic encoding of fear extinction in mPFC-amygdala circuits. *Neuron*. 2013, vol. 80, no.6, pp. 1491-507.
69. Cipriani A., Furukawa T. A., Salanti G., Chaimani A., Atkinson L. Z., Ogawa Y., Leucht S., Ruhe H. G., Turner E. H., Higgins J. P. T., Egger M., Takeshima N., Hayasaka Y., Imai H., Shinohara K., Tajika A., Ioannidis J. P. A., Geddes J. R. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet*. 2018, vol. 391, no. 10128, pp. 1357-1366.
70. Cooke J. D., Cavender H. M., Lima H. K., Grover L. M. Antidepressants that inhibit both serotonin and norepinephrine reuptake impair long-term potentiation in hippocampus. *Psychopharmacology (Berl)*. 2014, vol. 231, no. 23, pp. 4429-4441.
71. Corcoran K. A., Quirk G. J. Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate, fears. *J Neurosci*. 2007, vol. 27, no. 4, pp. 840-844.
72. Courtin J., Bienvenu T. C., Einarsson E. Ö., Herry C. Medial prefrontal cortex neuronal circuits in fear behavior. *Neuroscience*. 2013, vol. 240, pp. 219-242.
73. Cowen P. J., Browning M. What has serotonin to do with depression? *World Psychiatry*. 2015, vol. 14, no. 2, pp. 58-60.
74. Cramer N., Ji Y., Kane M. A., Pilli N. R., Castro A., Posa L., Van Patten G., Masri R., Keller A. Elevated Serotonin in Mouse Spinal Dorsal Horn Is Pronociceptive. *eNeuro*. 2023, vol. 10, no. 12.
75. Cui X., Zhou S., Xia G., Chen J., Jiang L., Huang J., Tong J. A multispecies probiotic accelerates fear extinction and inhibits relapse in mice: Role of microglia. *Neuropharmacology*. 2021, vol. 193.
76. Cullen P. K., Gilman T. L., Winiecki P., Riccio D. C., Jasnow A. M. Activity of the anterior cingulate cortex and ventral hippocampus underlie increases in contextual fear generalization. *Neurobiol Learn Mem*. 2015, vol. 124, pp. 19-27.
77. Cummings K. A., Clem R. L. Prefrontal somatostatin interneurons encode fear memory. *Nat Neurosci*. 2020, vol. 23, no.1, pp. 61-74.
78. Dahlström A., Fuxe K. Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia*. 1964, vol. 20, no. 7, pp. 398-399.
79. Dalley J. W., Cardinal R. N., Robbins T. W. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev*. 2004, vol. 28, no. 7, pp. 771-784.
80. Daubert E. A., Condon B. G. Serotonin: a regulator of neuronal morphology and circuitry. *Trends Neurosci*. 2010, vol. 33, no. 9, pp. 424-434.

81. DeFelipe J. Types of neurons, synaptic connections and chemical characteristics of cells immunoreactive for calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in the neocortex. *J Chem Neuroanat.* 1997, vol. 14, no. 1, pp. 1-19.
82. Dell'Osso B., Buoli M., Baldwin D. S., Altamura A. C. Serotonin norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs) in anxiety disorders: a comprehensive review of their clinical efficacy. *Hum Psychopharmacol.* 2010, vol. 25, no. 1, pp. 17-29.
83. Descarries L., Bérubé-Carrière N., Riad M., Bo G. D., Mendez J. A., Trudeau L. E. Glutamate in dopamine neurons: synaptic versus diffuse transmission. *Brain Res Rev.* 2008, vol. 58, no. 2, pp. 290-302.
84. Diehl G. W., Redish A. D. Differential processing of decision information in subregions of rodent medial prefrontal cortex. *Elife.* 2023, vol. 12.
85. Ding Y. Q., Marklund U., Yuan W., Yin J., Wegman L., Ericson J., Deneris E., Johnson R. L., Chen Z. F. Lmx1b is essential for the development of serotonergic neurons. *Nat Neurosci.* 2003, vol. 6, no. 9, pp. 933-938.
86. Dixsaut L., Gräff J. The Medial Prefrontal Cortex and Fear Memory: Dynamics, Connectivity, and Engrams. *Int J Mol Sci.* 2021, vol. 22, no. 22, pp. 12113.
87. Do-Monte F. H., Quiñones-Laracuente K., Quirk G. J. A temporal shift in the circuits mediating retrieval of fear memory. *Nature.* 2015, vol. 519, no. 7544, pp. 460-463.
88. Döhne N., Falck A., Janach G. M. S., Byvaltcev E., Strauss U. Interferon- γ augments GABA release in the developing neocortex via nitric oxide synthase/soluble guanylate cyclase and constrains network activity. *Front Cell Neurosci.* 2022, vol. 16, pp. 913299.
89. Dolleman-van der Weel M. J., Griffin A. L., Ito H. T., Shapiro M. L., Witter M. P., Vertes R. P., Allen T. A. The nucleus reuniens of the thalamus sits at the nexus of a hippocampus and medial prefrontal cortex circuit enabling memory and behavior. *Learn Mem.* 2019, vol. 26, no. 7, pp. 191-205.
90. Dolzani S. D., Baratta M. V., Amat J., Agster K. L., Saddoris M. P., Watkins L. R., Maier S. F. Activation of a Habenulo-Raphe Circuit Is Critical for the Behavioral and Neurochemical Consequences of Uncontrollable Stress in the Male Rat. *eNeuro.* 2016, vol. 3, no. 5.
91. Doucet M. V., Harkin A., Dev K. K. The PSD-95/nNOS complex: new drugs for depression? *Pharmacol Ther.* 2012, vol. 133, no. 2, pp. 218-229.
92. Duke A. A., Bègue L., Bell R., Eisenlohr-Moul T. Revisiting the serotonin-aggression relation in humans: a meta-analysis. *Psychol Bull.* 2013, vol. 139, no. 5, pp. 1148-1172.
93. Duman R. S. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. *Eur Psychiatry.* 2002, vol. 17, no. 3, pp. 306-310.

94. Duvarci S., Pare D. Amygdala microcircuits controlling learned fear. *Neuron*. 2014, vol. 82, no. 5, pp. 966-980.
95. Dygalo N. N., Kalinina T. S., Shishkina G. T. Stress-induced expression pattern of glutamate signaling genes associated with anhedonia. *Stress*. 2020, vol. 23, no. 6, pp. 700-707.
96. Eichenbaum H. The role of the hippocampus in navigation is memory. *J Neurophysiol*. 2017, vol. 117, no. 4, pp. 1785-1796.
97. Einarsson E. Ö., Pors J., Nader K. Systems reconsolidation reveals a selective role for the anterior cingulate cortex in generalized contextual fear memory expression. *Neuropsychopharmacology*. 2015, vol. 40, no. 2, pp. 480-4877.
98. Erickson J. D., Schafer M. K., Bonner T. I., Eiden L. E., Weihe E. Distinct pharmacological properties and distribution in neurons and endocrine cells of two isoforms of the human vesicular monoamine transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996, vol. 93, no. 10, pp. 5166-5571.
99. van Erp A. M., Miczek K. A. Aggressive behavior, increased accumbal dopamine, and decreased cortical serotonin in rats. *J Neurosci*. 2000, vol. 20, no. 24, pp. 9320-9325.
100. Feil R., Kleppisch T. NO/cGMP-dependent modulation of synaptic transmission. *Handb Exp Pharmacol*. 2008, vol. 184, pp. 529-560.
101. Feng J., Cai X., Zhao J., Yan Z. Serotonin receptors modulate GABA(A) receptor channels through activation of anchored protein kinase C in prefrontal cortical neurons. *J Neurosci*. 2001, vol. 21, no. 17, pp. 6502-6511.
102. Fernandez S. P., Gaspar P. Investigating anxiety and depressive-like phenotypes in genetic mouse models of serotonin depletion. *Neuropharmacology*. 2012, vol. 62, no. 1, pp. 144-154.
103. Ferrari P. F., van Erp A. M., Tornatzky W., Miczek K. A. Accumbal dopamine and serotonin in anticipation of the next aggressive episode in rats. *Eur J Neurosci*. 2003, vol. 17no. 2, pp. 371-378.
104. Floresco S. B., Tse M. T. Dopaminergic regulation of inhibitory and excitatory transmission in the basolateral amygdala-prefrontal cortical pathway. *J Neurosci*. 2007, vol. 27, no. 8, pp. 2045-2057.
105. Förstermann U., Sessa W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012, vol. 33, no. 7, pp. 829-837.
106. Frankland P. W., Bontempi B., Talton L. E., Kaczmarek L., Silva A. J. The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science*. 2004, vol. 304, no. 5672, pp. 881-883
107. Frankland P. W., Bontempi B. The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci*. 2005, vol. 6, no. 2, pp. 119-130.

108. Franklin T. B., Silva B. A., Perova Z., Marrone L., Masferrer M. E., Zhan Y., Kaplan A., Greetham L., Verrechia V., Halman A., Pagella S., Vyssotski A. L., Illarionova A., Grinevich V., Branco T., Gross C. T. Prefrontal cortical control of a brainstem social behavior circuit. *Nat Neurosci.* 2017, vol. 20, no. 2, pp. 260-270.
109. Fraunfelter L., Gerdes A. B. M., Alpers G. W. Fear one, fear them all: A systematic review and meta-analysis of fear generalization in pathological anxiety. *Neurosci Biobehav Rev.* 2022, vol. 139, p. 104707.
110. Freis E. D. Mental depression in hypertensive patients treated for long periods with large doses of reserpine. *N Engl J Med.* 1954, vol. 251, no. 25, pp. 1006-1008.
111. Gabbott P. L., Warner T. A., Busby S. J. Amygdala input monosynaptically innervates parvalbumin immunoreactive local circuit neurons in rat medial prefrontal cortex. *Neuroscience.* 2006, vol. 139, no. 3, pp. 1039-1048.
112. Gabbott P., Headlam A., Busby S. Morphological evidence that CA1 hippocampal afferents monosynaptically innervate PV-containing neurons and NADPH-diaphorase reactive cells in the medial prefrontal cortex (Areas 25/32) of the rat. *Brain Res.* 2002, vol. 946, no. 2, pp. 314-322.
113. Gabbott P. L., Warner T. A., Busby S. J. Amygdala input monosynaptically innervates parvalbumin immunoreactive local circuit neurons in rat medial prefrontal cortex. *Neuroscience.* 2006, vol. 139, no. 3, pp. 1039-1048.
114. Garthwaite J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *Eur J Neurosci.* 2008, vol. 27, no. 11, pp. 2783-2802.
115. Garthwaite J. Nitric oxide as a multimodal brain transmitter. *Brain Neurosci Adv.* 2018, vol. 2.
116. Gartside S. E., Yurttaser A. E., Burns A. L., Jovanović N., Smith K. J., Amegashiti N. S., Olthof BMJ. A role for nitric oxide in serotonin neurons of the midbrain raphe nuclei. *Eur J Neurosci.* 2020, vol. 51, no. 9, pp. 1881-1899.
117. Garver D. L., Davis J. M., Biogenic amine hypothesis of affective disorders. *Life Sciences.* 1979, vol. 24, pp. 383-394.
118. Gaspar P., Lillesaar C. Probing the diversity of serotonin neurons. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2012, vol. 367, no. 1601, pp. 2382-2394.
119. Gershon M. D. Serotonin is a sword and a shield of the bowel: serotonin plays offense and defense. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2012, vol. 123, pp. 268-280
120. Gershon M. D., Margolis K. G. The gut, its microbiome, and the brain: connections and communications. *J Clin Invest.* 2021, vol. 18, e143768.

121. Gershon M. D., Tack J. The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*. 2007, vol. 132, no. 1, pp. 397-414.
122. Ghasemi M., Claunch J., Niu K. Pathologic role of nitrergic neurotransmission in mood disorders. *Prog Neurobiol*. 2019, vol. 173, pp. 54-87.
123. Gianni G., Pasqualetti M. Wiring and volume transmission: an overview of the dual modality for serotonin neurotransmission. *ACS chem neurosci*. 2023, vol. 14, no. 23, pp. 4093-4104.
124. Gilmartin M. R., Balderston N. L., Helmstetter F. J. Prefrontal cortical regulation of fear learning. *Trends Neurosci*. 2014, vol. 37, no. 8, pp. 455-464.
125. Gilmartin M. R., Helmstetter F. J. Trace and contextual fear conditioning require neural activity and NMDA receptor-dependent transmission in the medial prefrontal cortex. *Learn Mem*. 2010, vol. 17, no. 6, pp. 289-296.
126. Giustino T. F., Ramanathan K. R., Totty M. S., Miles O. W., Maren S. Locus coeruleus norepinephrine drives stress-induced increases in basolateral amygdala firing and impairs extinction learning. *J Neurosci*. 2020, vol. 40, no. 4, pp. 907-916.
127. Gonzalez S. T., Fanselow M. S. The role of the ventromedial prefrontal cortex and context in regulating fear learning and extinction. *Psychol Neurosci*. 2020, vol. 13, no. 3, pp. 459-472.
128. Goshen I., Brodsky M., Prakash R., Wallace J., Gradinariu V., Ramakrishnan C., Deisseroth K. Dynamics of retrieval strategies for remote memories. *Cell*. 2011, vol. 147, no. 3, pp. 678-689.
129. Graeff F. G., Guimarães F. S., De Andrade T. G., Deakin J. F. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav*. 1996, vol. 54, no. 1, pp. 129-141.
130. Gravius A., Barberi C., Schäfer D., Schmidt W. J., Danysz W. The role of group I metabotropic glutamate receptors in acquisition and expression of contextual and auditory fear conditioning in rats - a comparison. *Neuropharmacology*. 2006, vol. 51no. 7-8, pp. 1146-1155.
131. Griebel G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacol Ther*. 1995, vol. 65, no. 3, pp. 319-95.
132. Groenink L., Joordens R. J., Hijzen T. H., Dirks A., Olivier B. Infusion of flesinoxan into the amygdala blocks the fear-potentiated startle. *Neuroreport*. 2000, vol. 11, no. 10, pp. 2285-2288.

133. Gross C., Zhuang X., Stark K., Ramboz S., Oosting R., Kirby L., Santarelli L., Beck S., Hen R. Serotonin_{1A} receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. *Nature*. 2002, vol. 416, no. 6879, pp. 396-400.
134. Guhn A., Dresler T., Andreatta M., Müller L. D., Hahn T., Tupak S. V., Polak T., Deckert J., Herrmann M.J. Medial prefrontal cortex stimulation modulates the processing of conditioned fear. *Front Behav Neurosci*. 2014, vol. 8, pp. 44.
135. Gullino L. S., Fuller C., Dunn P., Collins H. M., El Mestikawy S., Sharp T. Evidence for a Role of 5-HT-glutamate Co-releasing Neurons in Acute Stress Mechanisms. *ACS Chem Neurosci*. 2024, vol. 15, no. 6, pp. 1185-1196.
136. Gutknecht L., Kriegebaum C., Waider J., Schmitt A., Lesch K. P. Spatio-temporal expression of tryptophan hydroxylase isoforms in murine and human brain: convergent data from Tph2 knockout mice. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2009, vol. 19, no. 4, pp. 266-282.
137. Guzel T., Mirowska-Guzel D. The role of serotonin neurotransmission in gastrointestinal tract and pharmacotherapy. *Molecules*. 2022, vol. 27, no. 5, p.1680.
138. Hagsäter S. M., Pettersson R., Pettersson C., Atanasovski D., Näslund J., Eriksson E. A complex impact of systemically administered 5-HT2a receptor ligands on conditioned fear. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2021, vol. 24, no. 9, pp. 749-757.
139. Hajós M., Richards C. D., Székely A. D., Sharp T. An electrophysiological and neuroanatomical study of the medial prefrontal cortical projection to the midbrain raphe nuclei in the rat. *Neuroscience*. 1998, vol. 87, no. 1, pp. 195-108.
140. Hall H., Farde L., Halldin C., Lundkvist C., Sedvall G. Autoradiographic localization of 5-HT(2A) receptors in the human brain using [(3)H]M100907 and [(11)C]M100907. *Synapse*. 2000, vol. 38, no. 4, pp. 421-31.
141. Hammen C. Stress and depression. *Annu Rev Clin Psychol*. 2005, vol. 1, pp. 293-319.
142. Hansson S. R., Mezey E., Hoffman B. J. Ontogeny of vesicular monoamine transporter mRNAs VMAT1 and VMAT2. II. Expression in neural crest derivatives and their target sites in the rat. *Brain Res Dev Brain Res*. 1998, vol. 110, no. 1, pp. 159-174.
143. Hardingham N., Dachtler J., Fox K. The role of nitric oxide in pre-synaptic plasticity and homeostasis. *Front Cell Neurosci*. 2013, vol. 7, p. 190.
144. Harkin A., Connor T. J., Walsh M., St John N., Kelly J.P. Serotonergic mediation of the antidepressant-like effects of nitric oxide synthase inhibitors. *Neuropharmacology*. 2003, vol. 44, no. 5, pp. 616-23.
145. Harmer C. J., Goodwin G. M., Cowen P. J. Why do antidepressants take so long to work? A cognitive neuropsychological model of antidepressant drug action. *Br J Psychiatry*. 2009, vol. 195, no. 2, pp. 102-108.

146. Harrell A. V., Allan A. M. Improvements in hippocampal-dependent learning and decremental attention in 5-HT₃ receptor overexpressing mice. *Learn Mem.* 2003, vol. 10, no. 5, pp. 410-419.
147. Hashimoto S., Inoue T., Muraki I., Koyama T. Effects of acute citalopram on the expression of conditioned freezing in naive versus chronic citalopram-treated rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009, vol. 33, no. 1, pp. 113-117.
148. Heidbreder C. A., Groenewegen H. J. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev.* 2003, vol. 27, no. 6, pp. 555-579.
149. Heiming R. S., Mönning A., Jansen F., Kloke V., Lesch K. P., Sachser N. To attack, or not to attack? The role of serotonin transporter genotype in the display of maternal aggression. *Behav Brain Res.* 2013, vol. 242, pp. 135-41.
150. Heredia D. J., Gershon M. D., Koh S. D., Corrigan R. D., Okamoto T., Smith T. K. Important role of mucosal serotonin in colonic propulsion and peristaltic reflexes: in vitro analyses in mice lacking tryptophan hydroxylase 1. *J Physiol.* 2013, vol. 591, no. 23, pp. 5939-5957.
151. Hieronymus F., Emilsson J. F., Nilsson S., Eriksson E. Consistent superiority of selective serotonin reuptake inhibitors over placebo in reducing depressed mood in patients with major depression. *Mol Psychiatry.* 2016, vol. 21, no. 4, pp. 523-30.
152. Hioki H., Nakamura H., Ma Y. F., Konno M., Hayakawa T., Nakamura K. C., Fujiyama F., Kaneko T. Vesicular glutamate transporter 3-expressing nonserotonergic projection neurons constitute a subregion in the rat midbrain raphe nuclei. *J Comp Neurol.* 2010, vol. 518, no. 5, pp. 668-686.
153. Holmes A. Genetic variation in cortico-amygdala serotonin function and risk for stress-related disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008, vol. 32, no. 7, pp. 1293-314.
154. Holmes A., Murphy D. L., Crawley J. N. Abnormal behavioral phenotypes of serotonin transporter knockout mice: parallels with human anxiety and depression. *Biol Psychiatry.* 2003, vol. 54, no. 10, pp. 953-959.
155. van Holstein M., Floresco S. B. Dissociable roles for the ventral and dorsal medial prefrontal cortex in cue-guided risk/reward decision making. *Neuropsychopharmacology.* 2020, vol. 45, no. 4, pp. 683-693.
156. Homberg J. R. Serotonergic modulation of conditioned fear. *Scientifica.* 2012: 821549.
157. Hon O. J., DiBerto J. F., Mazzone C. M., Sugam J., Bloodgood D. W., Hardaway J. A., Husain M., Kendra A., McCall N. M., Lopez A. J., Kash T. L., Lowery-Gionta E. G.

- Serotonin modulates an inhibitory input to the central amygdala from the ventral periaqueductal gray. *Neuropsychopharmacology*. 2022, vol. 47, no. 13, pp. 2194-2204.
158. Hökfelt T., Arvidsson U., Cullheim S., Millhorn D., Nicholas A. P., Pieribone V., Seroogy K., Ulvhake B. Multiple messengers in descending serotonin neurons: localization and functional implications. *J Chem Neuroanat*. 2000, vol. 18, no. 1-2, pp. 75-86.
159. Hoover W. B., Vertes R. P. Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct*. 2007, vol. 212, no. 2, pp. 149-179.
160. Hornung J. P., Fritschy J. M., Törk I. Distribution of two morphologically distinct subsets of serotonergic axons in the cerebral cortex of the marmoset. *J Comp Neurol*. 1990, vol. 297, no. 2, pp. 165-181.
161. Hoyer D., Hannon J. P., Martin G. R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002, vol. 71, no. 4, pp. 533-554.
162. Huang Y. J., Lane H. Y., Lin C. H. New treatment strategies of depression: based on mechanisms related to neuroplasticity. *Neural Plast*. 2017, 4605971.
163. Hugues S., Garcia R. Reorganization of learning-associated prefrontal synaptic plasticity between the recall of recent and remote fear extinction memory. *Learn Mem*. 2007, vol. 14, no. 8, pp. 520-524.
164. Lo Iacono L., Gross C. Alpha-Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II contributes to the developmental programming of anxiety in serotonin receptor 1A knock-out mice. *J Neurosci*. 2008, vol. 28, no. 24, pp. 6250-6257.
165. Inoue T., Li X. B., Abekawa T., Kitaichi Y., Izumi T., Nakagawa S., Koyama T. Selective serotonin reuptake inhibitor reduces conditioned fear through its effect in the amygdala. *Eur J Pharmacol*. 2004, vol. 497, no. 3, pp. 311-316.
166. Jaffrey S. R., Erdjument-Bromage H., Ferris C. D., Tempst P., Snyder S. H. Protein S-nitrosylation: a physiological signal for neuronal nitric oxide. *Nat Cell Biol*. 2001, vol 3, no. 2, pp. 193-197.
167. Jansson A., Tinner B., Bancila M., Vergé D., Steinbusch H. W., Agnati L. F., Fuxe K. Relationships of 5-hydroxytryptamine immunoreactive terminal-like varicosities to 5-hydroxytryptamine-2A receptor-immunoreactive neuronal processes in the rat forebrain. *J Chem Neuroanat*. 2001 Sep;22(3):185-203Jauhar S,
168. Johnson P. L., Molosh A., Fitz S. D., Arendt D., Deehan G. A., Federici L. M., Bernabe C., Engleman E. A., Rodd Z. A., Lowry C. A., Shekhar A. Pharmacological depletion of serotonin in the basolateral amygdala complex reduces anxiety and disrupts fear conditioning. *Pharmacol Biochem Behav*. 2015, vol. 138, pp. 174-179.

169. Kantak K. M., Hegstrand L. R., Whitman J., Eichelman B. Effects of dietary supplements and a tryptophan-free diet on aggressive behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1980, vol. 12, no. 2, pp. 173-179.
170. Kapoor V., Provost A. C., Agarwal P., Murthy V. N. Activation of raphe nuclei triggers rapid and distinct effects on parallel olfactory bulb output channels. *Nat Neurosci.* 2016, vol. 19, no. 2, pp. 271-82.
171. Karolewicz B., Bruce K. H., Lee B., Paul I. A. Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice. 2. Chronic treatment results in downregulation of cortical beta-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol.* 1999, vol. 372, no. 3, pp. 215-20.
172. Kästner N., Richter S. H., Urbanik S., Kunert J., Waider J., Lesch K. P., Kaiser S., Sachser N. Brain serotonin deficiency affects female aggression. *Sci Rep.* 2019 Feb 4;9(1):1366.
173. Kaumann A. J., Levy F. O. 5-hydroxytryptamine receptors in the human cardiovascular system. *Pharmacol Ther.* 2006, vol. 111, no. 3, pp. 674-706.
174. Kawahara H., Yoshida M., Yokoo H., Nishi M., Tanaka M. Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdala and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis. *Neurosci Lett.* 1993, 162(1-2):81-4.
175. Kennis M., Gerritsen L., van Dalen M., Williams A., Cuijpers P., Bockting C. Prospective biomarkers of major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry.* 2020, vol. 25, no. 2, pp. 321-338.
176. Kepecs A., Fishell G. Interneuron cell types are fit to function. *Nature.* 2014, vol. 505(7483):318-326.
177. Kessler R. C., Berglund P., Demler O., Jin R., Merikangas K. R., Walters E. E. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry.* 2005, vol. 62, no. 6, pp. 593-602.
178. Kheirbek M. A., Klemenhagen K. C., Sahay A., Hen R. Neurogenesis and generalization: a new approach to stratify and treat anxiety disorders. *Nat Neurosci.* 2012, vol. 15, no. 12, pp. 1613-1620.
179. Kim E. J., Kim N., Kim H. T., Choi J. S. The prelimbic cortex is critical for context-dependent fear expression. *Front Behav Neurosci.* 2013, vol. 7, p. 73.
180. Kiser D., Steemers B., Branchi I., Homberg J. R. The reciprocal interaction between serotonin and social behaviour. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012, vol. 362, no. 786-798.
181. Kiss J. P. Role of nitric oxide in the regulation of monoaminergic neurotransmission. *Brain Res Bull.* 2000, vol. 52, no. 6, pp. 459-466.
182. Kitaichi Y., Inoue T., Nakagawa S., Omiya Y., Song N., An Y., Chen C., Kusumi I., Koyama T. Local infusion of citalopram into the basolateral amygdala decreased conditioned

- fear of rats through increasing extracellular serotonin levels. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014, vol. 54, pp. 216-222.
183. Kitamura T., Ogawa S. K., Roy D. S., Okuyama T., Morrissey M. D., Smith L. M., Redondo R. L., Tonegawa S. Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory. *Science*. 2017, vol. 356, no. 6333, pp. 73-78.
184. Klemenhagen K. C., Gordon J. A., David D. J., Hen R., Gross C. T. Increased fear response to contextual cues in mice lacking the 5-HT1A receptor. *Neuropsychopharmacology*. 2006, vol. 31, no. 1, pp. 101-111.
185. Komorowski R. W., Garcia C. G., Wilson A., Hattori S., Howard M. W., Eichenbaum H. Ventral hippocampal neurons are shaped by experience to represent behaviorally relevant contexts. *J Neurosci*. 2013, vol. 33, no. 18, pp. 8079-8087.
186. Kosofsky B. E., Molliver M. E. The serotonergic innervation of cerebral cortex: different classes of axon terminals arise from dorsal and median raphe nuclei. *Synapse*. 1987, vol. 1, no. 2, pp. 153-168.
187. Kraus C., Castrén E., Kasper S., Lanzenberger R. Serotonin and neuroplasticity - Links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2017, vol. 77, pp. 317-326.
188. Kubota Y., Shigematsu N., Karube F., Sekigawa A., Kato S., Yamaguchi N., Hirai Y., Morishima M., Kawaguchi Y. Selective coexpression of multiple chemical markers defines discrete populations of neocortical GABAergic neurons. *Cereb Cortex*. 2011, vol. 21, no. 8, pp. 1803-1817.
189. Kühn E. R., Bellon K., Huybrechts L., Heyns W. Endocrine differences between the Wistar and Sprague-Dawley laboratory rat: influence of cold adaptation. *Horm Metab Res*. 1983, vol. 15, no. 10, pp. 491-498.
190. Lal S., Kirkup A. J., Brunsden A. M., Thompson D. G., Grundy D. Vagal afferent responses to fatty acids of different chain length in the rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001, vol. 281, no. 4.
191. Laricchiuta D, Sciamanna G, Gimenez J, Termine A, Fabrizio C, Caioli S, Balsamo F, Panuccio A, De Bardi M, Saba L, Passarello N, Cutuli D, Mattioni A, Zona C, Orlando V, Petrosini L. Optogenetic Stimulation of Prelimbic Pyramidal Neurons Maintains Fear Memories and Modulates Amygdala Pyramidal Neuron Transcriptome. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 15;22(2):810.
192. Latanov A. V., Korshunov V. A., Maiorov V. I., Serkov A. N. Serotonin and dopamine in biological models of depression. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2019, vol. 49, no. 8, pp. 987–995.

193. Latchoumane C.V., Ngo H.V., Born J, Shin H.S. Thalamic Spindles Promote Memory Formation during Sleep through Triple Phase-Locking of Cortical, Thalamic, and Hippocampal Rhythms. *Neuron*. 2017, vol. 95, no. 2, pp. 24-435.
194. Laubach M., Amarante L.M., Swanson K., White S.R. What, If Anything, Is Rodent Prefrontal Cortex? *eNeuro*. 2018, vol. 5, no. 5.
195. Laurent V., Westbrook R.F. Inactivation of the infralimbic but not the prelimbic cortex impairs consolidation and retrieval of fear extinction. *Learn Mem*. 2009, vol. 16, no. 9, pp. 520-529.
196. Lee S., Hjerling-Leffler J., Zagha E., Fishell G., Rudy B. The largest group of superficial neocortical GABAergic interneurons expresses ionotropic serotonin receptors. *J Neurosci*. 2010, vol. 30 no. 50, pp. 16796-16808.
197. Lee Y.K., Choi J.S. Inactivation of the medial prefrontal cortex interferes with the expression but not the acquisition of differential fear conditioning in rats. *Exp Neurobiol*. 2012, vol. 21, no. 1, pp. 23-29.
198. León L.A, Castro-Gomes V., Zárate-Guerrero S., Corredor K., Mello Cruz A.P., Brandão M.L., Cardenas F.P., Landeira-Fernandez J. Behavioral Effects of Systemic, Infralimbic and Prelimbic Injections of a Serotonin 5-HT_{2A} Antagonist in Carioca High- and Low-Conditioned Freezing Rats. *Front Behav Neurosci*. 2017, vol. 7, no. 11, p. 117.
199. Leonard C.M. The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the mediodorsal nucleus. II. Efferent connections. *Brain Res*. 1969, vol. 12, no. 2, pp. 321-343.
200. Leonard C.M. Finding prefrontal cortex in the rat. *Brain Res*. 2016, vol. 1645, pp.1-3.
201. Li H.Q., Jiang W., Ling L., Pratelli M., Chen C., Gupta V., Godavarthi S.K., Spitzer N.C. Generalized fear after acute stress is caused by change in neuronal cotransmitter identity. *Science*. 2024, vol. 383, no. 6688, pp. 1252-1259.
202. Li Y.F. A hypothesis of monoamine (5-HT) - Glutamate/GABA long neural circuit: Aiming for fast-onset antidepressant discovery. *Pharmacol Ther*. 2020, vol. 208, p. 107494.
203. Liang H.Y., Chen Z.J., Xiao H., Lin Y.H., Hu Y.Y., Chang L., Wu H.Y., Wang P., Lu W., Zhu D.Y., Luo C.X. nNOS-expressing neurons in the vmPFC transform pPVT-derived chronic pain signals into anxiety behaviors. *Nat Commun*. 2020, vol. 11, no. 1, p. 2501.
204. Likhtik E., Stujenske J.M., Topiwala M.A., Harris A.Z., Gordon J.A. Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nat Neurosci*. 2014, vol. 17, no. 1, pp. 106-113.
205. Liu C., Maejima T., Wyler S.C., Casadesus G., Herlitze S., Deneris E.S. Pet-1 is required across different stages of life to regulate serotonergic function. *Nat Neurosci*. 2010, vol. 13, no. 10, pp. 1190-1198.

206. Liu Z., Zhou J., Li Y., Hu F., Lu Y., Ma M., Feng Q., Zhang J.E., Wang D., Zeng J., Bao J., Kim J.Y., Chen Z.F., Mestikawy E.S., Luo M. Dorsal raphe neurons signal reward through 5-HT and glutamate. *Neuron*. 2014, vol. 81, no. 6, pp. 1360-1374.
207. Lonsdorf T.B., Weike A.I., Nikamo P., Schalling M., Hamm A.O., Ohman A. Genetic gating of human fear learning and extinction: possible implications for gene-environment interaction in anxiety disorder. *Psychol Sci*. 2009, vol. 20, no. 2, pp. 198-206.
208. López-Terrones E., Celada P., Riga M.S., Artigas F. Preferential In Vivo Inhibitory Action of Serotonin in Rat Infralimbic versus Prelimbic Cortex: Relevance for Antidepressant Treatments. *Cereb Cortex*. 2022, vol. 32, no. 14, pp. 3000-3013.
209. Lopresto D., Schipper P., Homberg J.R. Neural circuits and mechanisms involved in fear generalization: Implications for the pathophysiology and treatment of posttraumatic stress disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016, vol. 60, pp. 31-42.
210. Lowry C.A. Functional subsets of serotonergic neurones: implications for control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Neuroendocrinol*. 2002, vol. 14, no. 11, pp. 911-923.
211. Lu Y., Simpson K.L., Weaver K.J., Lin R.C. Coexpression of serotonin and nitric oxide in the raphe complex: cortical versus subcortical circuit. *Anat Rec (Hoboken)*. 2010, vol. 293, no. 11, pp. 1954-1965.
212. Lummis S.C. 5-HT₃ receptors. *J Biol Chem*. 2012, vol. 287, no. 48, pp. 40239-40245.
213. Maier S.F. Behavioral control blunts reactions to contemporaneous and future adverse events: medial prefrontal cortex plasticity and a corticostriatal network. *Neurobiol Stress*. 2015, vol. 1, no. 1, pp. 12-22.
214. Maingret N., Girardeau G., Todorova R., Goutierre M., Zugaro M. Hippocampo-cortical coupling mediates memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci*. 2016, vol. 19, no. 7, pp. 959-964.
215. Marcinkiewcz C.A., Mazzone C.M., D'Agostino G., Halladay L.R., Hardaway J.A., DiBerto J.F., Navarro M., Burnham N., Cristiano C., Dorrier C.E., Tipton G.J., Ramakrishnan C., Kozicz T., Deisseroth K., Thiele T.E., McElligott Z.A., Holmes A., Heisler L.K., Kash T.L. Serotonin engages an anxiety and fear-promoting circuit in the extended amygdala. *Nature*. 2016, vol. 537, no. 7618, pp. 97-101.
216. Marek R., Strobel C., Bredy T.W., Sah P. The amygdala and medial prefrontal cortex: partners in the fear circuit. *J Physiol*. 2013, vol. 591, no. 10, pp. 2381-2391.
217. Marek R., Sun Y., Sah P. Neural circuits for a top-down control of fear and extinction. *Psychopharmacology*. Berl. 2019, vol. 236, no. 1, pp. 313-320.
218. Maren S. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annu Rev Neurosci*. 2001, vol. 24, pp. 897-931.

219. Maren S. Unrelenting Fear Under Stress: Neural Circuits and Mechanisms for the Immediate Extinction Deficit. *Front Syst Neurosci.* 2022, vol. 16, p. 888461.
220. Markram H., Toledo-Rodriguez M., Wang Y., Gupta A., Silberberg G., Wu C. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci.* 2004, vol. 5, no. 10, pp. 793-807.
221. Martín-Ruiz R., Puig M.V., Celada P., Shapiro D.A., Roth B.L., Mengod G., Artigas F. Control of serotonergic function in medial prefrontal cortex by serotonin-2A receptors through a glutamate-dependent mechanism. *J Neurosci.* 2001, vol. 21, no. 24, pp. 9856-9866.
222. Marton T.F., Seifkar H., Luongo F.J., Lee A.T., Sohal V.S. Roles of Prefrontal Cortex and Mediodorsal Thalamus in Task Engagement and Behavioral Flexibility. *J Neurosci.* 2018, vol. 38, no. 10, pp. 2569-2578.
223. Mawe G.M., Hoffman J.M. Serotonin signalling in the gut--functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013, vol. 10, no. 8, pp. 473-486.
224. McGarry L.M., Carter A.G. Inhibitory Gating of Basolateral Amygdala Inputs to the Prefrontal Cortex. *J Neurosci.* 2016, vol. 36, no. 36, pp. 9391-9406.
225. McQuade R., Sharp T. Functional mapping of dorsal and median raphe 5-hydroxytryptamine pathways in forebrain of the rat using microdialysis. *J Neurochem.* 1997, vol. 69, no. 2, pp. 791-796.
226. Meng X., Grandjean J., Sbrini G., Schipper P., Hofwijks N., Stoop J., Calabrese F., Homberg J. Tryptophan Hydroxylase 2 Knockout Male Rats Exhibit a Strengthened Oxytocin System, Are Aggressive, and Are Less Anxious. *ACS Chem Neurosci.* 2022, vol. 13, no. 20, pp. 2974-2981.
227. Milad M.R., Quirk G.J. Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature.* 2002, vol. 420, no. 6911, pp. 70-74.
228. Miller E.K., Cohen J.D. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci.* 2001, vol. 24, pp. 167-202.
229. Mlinar B., Corradetti R. Endogenous 5-HT, released by MDMA through serotonin transporter- and secretory vesicle-dependent mechanisms, reduces hippocampal excitatory synaptic transmission by preferential activation of 5-HT1B receptors located on CA1 pyramidal neurons. *Eur J Neurosci.* 2003, vol. 18, no. 6, pp. 1559-1571.
230. Moench K.M., Maroun M., Kavushansky A., Wellman C. Alterations in neuronal morphology in infralimbic cortex predict resistance to fear extinction following acute stress. *Neurobiol Stress.* 2015, vol. 3, pp. 23-33.
231. Mohammad-Zadeh L.F., Moses L., Gwaltney-Brant S.M. Serotonin: a review. *J Vet Pharmacol Ther.* 2008, vol. 31, no. 3, pp. 187-199.

232. Mohammadi-Farani A., Taghadosi M., Raziee S., Samimi Z. *In vivo* blockade of 5HT3 receptors in the infralimbic medial prefrontal cortex enhances fear extinction in a rat model of PTSD. *Iran J Basic Med Sci.* 2021, vol. 24, no. 6, pp. 776-786.
233. Moncrieff J., Cooper R.E., Stockmann T., Amendola S., Hengartner M.P., Horowitz M.A. The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Mol Psychiatry.* 2023, vol. 28, no. 8, pp. 3243-3256.
234. Montezinho L.P., Miller S., Plath N., Jensen N.H., Karlsson J.J., Witten L., Mørk A. The effects of acute treatment with escitalopram on the different stages of contextual fear conditioning are reversed by atomoxetine. *Psychopharmacology (Berl).* 2010, vol. 212, no. 2, pp. 131-143.
235. Resstel L.B., Corrêa F.M., Guimarães F.S. The expression of contextual fear conditioning involves activation of an NMDA receptor-nitric oxide pathway in the medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex.* 2008, vol. 18, no. 9, pp. 2027-2035.
236. Mori K., Togashi H., Kojima T., Matsumoto M., Ohashi S., Ueno K., Yoshioka M. Different effects of anxiolytic agents, diazepam and 5-HT(1A) agonist tandospirone, on hippocampal long-term potentiation *in vivo*. *Pharmacol Biochem Behav.* 2001, vol. 69, no. 3-4, pp. 367-372.
237. Munkholm K., Paludan-Müller A.S., Boesen K. Considering the methodological limitations in the evidence base of antidepressants for depression: a reanalysis of a network meta-analysis. *BMJ Open.* 2019, vol. 9, no. 6.
238. Murakami S., Imbe H., Morikawa Y., Kubo C., Senba E. Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly. *Neurosci Res.* 2005, vol. 53, no. 2, pp. 129-139.
239. Muraki I., Inoue T., Koyama T. Effect of co-administration of the selective 5-HT1A receptor antagonist WAY 100,635 and selective 5-HT1B/1D receptor antagonist GR 127,935 on anxiolytic effect of citalopram in conditioned fear stress in the rat. *Eur J Pharmacol.* 2008, vol. 586, no. 1-3, pp. 171-178.
240. Muñoz A., Scotto-Lomassese S., Bernard J.F., Soiza-Reilly M., Gaspar P. Conditional anterograde tracing reveals distinct targeting of individual serotonin cell groups (B5-B9) to the forebrain and brainstem. *Brain Struct Funct.* 2016, vol. 221, no. 1, pp. 535-561.
241. Narayanan N.S., Horst N.K., Laubach M. Reversible inactivations of rat medial prefrontal cortex impair the ability to wait for a stimulus. *Neuroscience.* 2006, vol. 139, no. 3, pp. 865-876.
242. Nelson D.L. 5-HT5 receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.* 2004, vol. 3, no. 1, pp. 53-58.

243. Nevins M.E., Anthony E.W. Antagonists at the serotonin-3 receptor can reduce the fear-potentiated startle response in the rat: evidence for different types of anxiolytic activity? *J Pharmacol Exp Ther.* 1994, vol. 268, no. 1, pp. 248-254.
244. Nicoloff D.M., Sosin H., Peter E.T., Bernstein E.F., Wangensteen O.H. The effect of serotonin on gastric secretion. *Am J Dig Dis.* 1963, vol. 8, pp. 267-72.
245. Noriega-Prieto J.A., Maglio L.E., Gallero-Salas Y., Fernández de Sevilla D. Nitric Oxide-Dependent LTD at Infralimbic Cortex. *Neuroscience.* 2019, vol. 418, pp. 149-156.
246. Ogren S.O., Eriksson T.M., Elvander-Tottie E., D'Addario C., Ekström J.C., Svenningsson P., Meister B., Kehr J., Stiedl O. The role of 5-HT(1A) receptors in learning and memory. *Behav Brain Res.* 2008, vol. 195, no. 1, pp. 54-77.
247. Okaty B.W., Commons K.G., Dymecki S.M. Embracing diversity in the 5-HT neuronal system. *Nat Rev Neurosci.* 2019, vol. 20, no. 7, pp. 397-424.
248. Olivier B. Serotonin and aggression. *Ann N Y Acad Sci.* 2004, vol. 1036, pp. 382-92.
249. Ongür D., Price J.L. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex.* 2000, vol. 10, no. 3, pp. 206-219.
250. Ortiz S., Latsko M.S., Fouty J.L., Dutta S., Adkins J.M., Jasnow A.M. Anterior Cingulate Cortex and Ventral Hippocampal Inputs to the Basolateral Amygdala Selectively Control Generalized Fear. *J Neurosci.* 2019, vol. 39, no. 33, pp. 6526-6539.
251. Pan S, Mayoral SR, Choi HS, Chan JR, Kheirbek MA. Preservation of a remote fear memory requires new myelin formation. *Nat Neurosci.* 2020, vol. 23, no. 4, pp. 487-499.
252. Passani M.B., Pugliese A.M., Azzurrini M., Corradetti R. Effects of DAU 6215, a novel 5-hydroxytryptamine3 (5-HT3) antagonist on electrophysiological properties of the rat hippocampus. *Br J Pharmacol.* 1994, vol. 112, no. 2, pp. 695-703.
253. Paul E.D., Hale M.W., Lukkes J.L., Valentine M.J., Sarchet D.M., Lowry C.A. Repeated social defeat increases reactive emotional coping behavior and alters functional responses in serotonergic neurons in the rat dorsal raphe nucleus. *Physiol Behav.* 2011, vol. 104, no. 2, pp. 272-82.
254. Pavesi E., Heldt S.A., Fletcher M.L. Neuronal nitric-oxide synthase deficiency impairs the long-term memory of olfactory fear learning and increases odor generalization. *Learn Mem.* 2013, vol. 20, no. 9, pp. 482-90.
255. Pavlova I.V., Broshevitskaya N.D., Rysakova, M.P. Effects of Microinjections of a Serotonin Receptor (5-HT_{2A/C}) Agonist and Antagonist into the Amygdala in Rats on Anxiety Behavior and Conditioned Reflex Fear. *Neurosci Behav Physi.* 2020, vol. 50, pp. 766-776.
256. Buttner-Ennever J. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates by George Paxinos and Charles Watson, 3rd edn. *Journal of Anatomy.* 1997, vol. 191, no. 2, pp. 315-317.

257. Pereira V. S., Suavinha A. C. D. R., Wegener G, Joca SRL. Prelimbic neuronal nitric oxide synthase inhibition exerts antidepressant-like effects independently of BDNF signalling cascades. *Acta Neuropsychiatr.* 2019, no.3, pp. 143-150.
258. Pessoa L. How many brain regions are needed to elucidate the neural bases of fear and anxiety? *Neurosci Biobehav Rev.* 2023, no.146, p. 105039.
259. Pourhamzeh M., Moravej F.G., Arabi M., Shahriari E., Mehrabi S., Ward R., Ahadi R., Joghataei M.T. The Roles of Serotonin in Neuropsychiatric Disorders. *Cell Mol Neurobiol.* 2022, vol. 42, no. 6, pp. 1671-1692.
260. Van Praag H. M. Can Stress Cause Depression? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 2004, vol. 28, no. 5, pp. 891–907.
261. Puig M.V., Watakabe A., Ushimaru M., Yamamori T., Kawaguchi Y. Serotonin modulates fast-spiking interneuron and synchronous activity in the rat prefrontal cortex through 5-HT1A and 5-HT2A receptors. *J Neurosci.* 2010, vol. 30, no. 6, pp. 2211-2222.
262. Puig M.V., Artigas F., Celada P. Modulation of the activity of pyramidal neurons in rat prefrontal cortex by raphe stimulation in vivo: involvement of serotonin and GABA. *Cereb Cortex.* 2005, vol. 15, no. 1, pp. 1-14.
263. Puig M.V., Gullede A.T. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Mol Neurobiol.* 2011, vol. 44, no. 3, pp. 449-464.
264. Pum M.E., Huston J.P., Müller C.P. The role of cortical serotonin in anxiety and locomotor activity in Wistar rats. *Behav Neurosci.* 2009, vol. 123, no. 2, pp. 449-454.
265. Ramanathan K.R., Jin J., Giustino T.F., Payne M.R., Maren S. Prefrontal projections to the thalamic nucleus reuniens mediate fear extinction. *Nat Commun.* 2018, vol. 9, no. 1, p. 4527.
266. Ramanathan K.R., Ressler R.L., Jin J., Maren S. Nucleus Reuniens Is Required for Encoding and Retrieving Precise, Hippocampal-Dependent Contextual Fear Memories in Rats. *J Neurosci.* 2018, vol. 38, no. 46, pp. 9925-9933
267. Rapport M.M., Green A.A., Page I.H. Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization. *J Biol Chem.* 1948, vol.176, no. 3, pp. 1243-1251.
268. Ravinder S., Burghardt N.S., Brodsky R., Bauer E.P., Chattarji S. A role for the extended amygdala in the fear-enhancing effects of acute selective serotonin reuptake inhibitor treatment. *Transl Psychiatry.* 2013, vol. 3, no. 1, p. 209.
269. Ren J., Friedmann D., Xiong J., Liu C.D., Ferguson B.R., Weerakkody T., DeLoach K.E., Ran C., Pun A., Sun Y., Weissbourd B., Neve R.L., Huguenard J., Horowitz M.A., Luo L. Anatomically Defined and Functionally Distinct Dorsal Raphe Serotonin Sub-systems. *Cell.* 2018, vol. 175, no. 2, pp. 472-487.

270. Resstel L.B., Fernandes K.B., Corrêa F.M. Medial prefrontal cortex modulation of the baroreflex parasympathetic component in the rat. *Brain Res.* 2004, vol. 1015, no. 1-2, pp. 136-144.
271. Restivo L., Vetere G., Bontempi B., Ammassari-Teule M. The formation of recent and remote memory is associated with time-dependent formation of dendritic spines in the hippocampus and anterior cingulate cortex. *J Neurosci.* 2009, vol. 29, no. 25, pp. 8206-8214.
272. Riad M., Garcia S., Watkins K.C., Jodoin N., Doucet E., Langlois X., el Mestikawy S., Hamon M., Descarries L. Somatodendritic localization of 5-HT_{1A} and preterminal axonal localization of 5-HT_{1B} serotonin receptors in adult rat brain. *J Comp Neurol.* 2000, vol. 417, no. 2, pp. 181-194.
273. Rieder M., Gauchel N., Bode C., Duerschmied D. Serotonin: a platelet hormone modulating cardiovascular disease. *J Thromb Thrombolysis.* 2021, vol. 52, no. 1, pp. 2-47.
274. Royer S., Sirota A., Patel J., Buzsáki G. Distinct representations and theta dynamics in dorsal and ventral hippocampus. *J Neurosci.* 2010, vol. 30, no. 5, pp. 1777-1787.
275. Rozeske R. R., Jercog D., Karalis N., Chaudun F., Khoder S., Girard D., Winke N., Herry C. Prefrontal-Periaqueductal Gray-Projecting Neurons Mediate Context Fear Discrimination. *Neuron.* 2018, vol. 97, no. 4, pp. 898-910.
276. Rubio F. J., Ampuero E., Sandoval R., Toledo J., Pancetti F., Wyneken U. Long-term fluoxetine treatment induces input-specific LTP and LTD impairment and structural plasticity in the CA1 hippocampal subfield. *Front Cell Neurosci.* 2013, vol. 7, pp. 66.
277. Ruggiero R. N., Rossignoli M. T., Marques D. B., de Sousa B. M., Romcy-Pereira R. N., Lopes-Aguiar C., Leite J. P. Neuromodulation of hippocampal-prefrontal cortical synaptic plasticity and functional connectivity: implications for neuropsychiatric disorders. *Front Cell Neurosci.* 2021, vol. 15, p. 732360.
278. Sadeghi M. A., Hemmati S., Nassireslami E., Yousefi Zoshk M., Hosseini Y., Abbasian K., Chamanara M. Targeting neuronal nitric oxide synthase and the nitrergic system in post-traumatic stress disorder. *Psychopharmacology.* 2022, vol. 239, no. 10, pp. 3057-3082.
279. Sadeghi M. A., Hemmati S., Yousefi-Manesh H., Fekrvand S., Foroutani L., Nassireslami E., Yousefi Zoshk M., Hosseini Y., Dehpour A. R., Chamanara M. Neuronal nitric oxide synthase inhibition accelerated the removal of fluoxetine's anxiogenic activity in an animal model of PTSD. *Behav Brain Res.* 2023, vol. 437, p. 114128.
280. Sakai N., Tanaka C. Inhibitory modulation of long-term potentiation via the 5-HT_{1A} receptor in slices of the rat hippocampal dentate gyrus. *Brain Res.* 1993, vol. 613, no. 2, pp. 326-330.

281. Sales A. J., Joca S. R. L., Del Bel E., Guimarães F. S. The antidepressant-like effect of doxycycline is associated with decreased nitric oxide metabolite levels in the prefrontal cortex. *Behav Brain Res.* 2024, vol. 458, p. 114764.
282. Sangha S., Diehl M. M., Bergstrom H. C., Drew M. R. Know safety, no fear. *Neurosci Biobehav Rev.* 2020, vol. 108, pp. 218-230.
283. Santana N., Bortolozzi A., Serrats J., Mengod G., Artigas F. Expression of serotonin 1A and serotonin 2A receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cereb Cortex.* 2004, vol. 14, no. 10, pp. 1100-1109.
284. Santana N., Artigas F. Laminar and cellular distribution of monoamine receptors in rat medial prefrontal cortex. *Front Neuroanat.* 2017, vol. 11, p. 87.
285. Santos J. M., Martinez R. C., Brandão M. L. Effects of acute and subchronic treatments with fluoxetine and desipramine on the memory of fear in moderate and high-intensity contextual conditioning. *Eur J Pharmacol.* 2006, vol. 542, no. 1-3, pp. 121-128.
286. Savitz J., Lucki I., Drevets W. C. 5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder. *Prog Neurobiol.* 2009, vol. 88, no. 1, pp. 17-31.
287. Saulskaya N.B., Fofanova N.V. Effects of N-Methyl-D-aspartate on extracellular citrulline level in the rat nucleus accumbens. *Neurosci Lett.* 2006, vol 407, no. 1, pp. 91–95.
288. Sayed N., Baskaran P., Ma X., van den Akker F., Beuve A. Desensitization of soluble guanylyl cyclase, the NO receptor, by S-nitrosylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007, vol. 104, no. 30, pp. 12312–12317.
289. Schafer M, Schiller D. A dominant role for serotonin in the formation of human social hierarchies. *Neuropsychopharmacology.* 2022, vol. 47, no. 13, pp. 2177–2178.
290. Schipper P., Brivio P., de Leest D., Madder L., Asrar B., Rebuglio F., Verheij M. M. M., Kozicz T., Riva M. A., Calabrese F., Henckens M. J. A. G., Homberg J. R. Impaired fear extinction recall in serotonin transporter knockout rats is transiently alleviated during adolescence. *Brain Sci.* 2019, vol. 9, no. 5, pp. 118.
291. Schmidt S. D., Furini C. R. G., Zinn C. G., Cavalcante L. E., Ferreira F. F., Behling J. A. K., Myskiw J. C., Izquierdo I. Modulation of the consolidation and reconsolidation of fear memory by three different serotonin receptors in hippocampus. *Neurobiol Learn Mem.* 2017, vol. 142, pp. 48–54.
292. Scoville W. B., Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2000, vol. 12, no. 1, pp. 103-113.
293. Segovia G., Mora F. Role of nitric oxide in modulating the release of dopamine, glutamate, and GABA in striatum of the freely moving rat. *Brain Res Bull.* 1998, vol. 45, no. 3, pp. 275-279.

294. Sequeira S. M., Ambrósio A. F., Malva J. O., Carvalho A. P., Carvalho C. M. Modulation of glutamate release from rat hippocampal synaptosomes by nitric oxide. *Nitric Oxide*. 1997, vol. 1, no. 4, pp. 315-329.
295. Sesack S. R., Deutch A. Y., Roth R. H., Bunney B. S. Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *J Comp Neurol*. 1989, vol. 290, no. 2, pp. 213-242.
296. Sharp T., Barnes N. M. Central 5-HT receptors and their function; present and future. *Neuropharmacology*. 2020, vol. 177, p. 108155.
297. Sharp T., Cowen P. J. 5-HT and depression: is the glass half-full? *Curr Opin Pharmacol*. 2011, vol. 11, no. 1, pp. 45-51.
298. Shishkina, G. T., V. V. Bulygina, N. P. Agarina, and N. N. Dygalo. The expression of brain-derived neurotrophic factor and tryptophan hydroxylase in the dorsal raphe nucleus during repeated stress. *Neurochemical Journal*. 2018, vol. 12, no. 2, pp. 152–154.
299. da Silva T. R., Sohn J. M. B., Andreatini R., Stern C. A. The role of prelimbic and anterior cingulate cortices in fear memory reconsolidation and persistence depends on the memory age. *Learn Mem*. 2020, vol. 27, no. 8, pp. 292-300.
300. Simpson K. L., Waterhouse B. D., Lin R. C. Differential expression of nitric oxide in serotonergic projection neurons: neurochemical identification of dorsal raphe inputs to rodent trigeminal somatosensory targets. *J Comp Neurol*. 2003, vol. 466, no. 4, pp. 495-512.
301. Smith K. A., Fairburn C. G., Cowen P. J. Relapse of depression after rapid depletion of tryptophan. *Lancet*. 1997, vol. 349, no. 9056, pp. 915-919.
302. Smith K. L., Kassem M. S., Clarke D. J., Kuligowski M. P., Bedoya-Pérez M. A., Todd S. M., Lagopoulos J., Bennett M. R., Arnold J. C. Microglial cell hyper-ramification and neuronal dendritic spine loss in the hippocampus and medial prefrontal cortex in a mouse model of PTSD. *Brain Behav Immun*. 2019, vol. 80, pp. 889-899.
303. Smith J. C., Whitton P. S. Nitric oxide modulates N-methyl-D-aspartate-evoked serotonin release in the raphe nuclei and frontal cortex of the freely moving rat. *Neurosci Lett*. 2000, vol. 291, no. 1, pp. 5-8.
304. Sokolov, A. Y., Skiba I. B., Lyubashina O. A. Neurophysiological and vascular mechanisms of action of serotonergic drugs for abortive migraine treatment. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2024, vol. 54, no. 5, pp. 707–725.
305. Song C., Moyer J. R. Jr. Layer- and subregion-specific differences in the neurophysiological properties of rat medial prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Neurophysiol*. 2018, vol. 119, no. 1, pp. 177-191.

306. Sotres-Bayon F., Bush D. E., LeDoux J. E. Emotional perseveration: an update on prefrontal-amygadala interactions in fear extinction. *Learn Mem.* 2004, vol. 11, no. 5, pp. 525-535.
307. Sotres-Bayon F., Quirk G. J. Prefrontal control of fear: more than just extinction. *Curr Opin Neurobiol.* 2010, vol. 20, no. 2, pp. 231-235.
308. Sotres-Bayon F., Sierra-Mercado D., Pardilla-Delgado E., Quirk G. J. Gating of fear in prelimbic cortex by hippocampal and amygdala inputs. *Neuron.* 2012, vol. 76, no. 4, pp. 804-812.
309. Souza R., Bueno D., Lima L. B., Muchon M. J., Gonçalves L., Donato J. Jr., Shammah-Lagnado S. J., Metzger M. Top-down projections of the prefrontal cortex to the ventral tegmental area, laterodorsal tegmental nucleus, and median raphe nucleus. *Brain Struct Funct.* 2022, vol. 227, no. 7, pp. 2465-2487.
310. Spellman T., Svei M., Kaminsky J., Manzano-Nieves G., Liston C. Prefrontal deep projection neurons enable cognitive flexibility via persistent feedback monitoring. *Cell.* 2021, vol. 184, no. 10, pp. 2750-2766.
311. Srejic L. R., Wood K. M., Zeqja A., Hashemi P., Hutchison W. D. Modulation of serotonin dynamics in the dorsal raphe nucleus via high frequency medial prefrontal cortex stimulation. *Neurobiol Dis.* 2016, vol. 94, pp. 129-138.
312. Steinbusch H. W. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience.* 1981, vol. 6, no. 4, pp. 557-618.
313. Stern C. A., Gazarini L., Vanvossen A. C., Hames M. S., Bertoglio L. J. Activity in prelimbic cortex subserves fear memory reconsolidation over time. *Learn Mem.* 2013, vol. 21, no. 1, pp. 14-20.
314. Stiedl O., Misane I., Spiess J., Ogren S. O. Involvement of the 5-HT_{1A} receptors in classical fear conditioning in C57BL/6J mice. *J Neurosci.* 2000, vol. 20, no. 22, pp. 8515-8527.
315. Strasser A., McCarron R. M., Ishii H., Stanimirovic D., Spatz M. L-arginine induces dopamine release from the striatum in vivo. *Neuroreport.* 1994, vol. 5, no. 17, pp. 2298-2300.
316. Stujenske J. M., O'Neill P. K., Fernandes-Henriques C., Nahmoud I., Goldburg S. R., Singh A., Diaz L., Labkovich M., Hardin W., Bolkan S. S., Reardon T. R., Spellman T. J., Salzman C. D., Gordon J. A., Liston C., Likhtik E. Prelimbic cortex drives discrimination of non-aversion via amygdala somatostatin interneurons. *Neuron.* 2022, vol. 110, no. 14, pp. 2258-2267.
317. Sun N., You Y., Yang D., Jiang Z. X., Xia T., Zhou Q. G., Zhu D. Y. Neuronal nitric oxide synthase in dorsal raphe nucleus mediates PTSD-like behaviors induced by single-prolonged

- stress through inhibiting serotonergic neurons activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021, vol. 585, pp. 139-145.
318. Sun N., Qin Y. J., Xu C., Xia T., Du Z. W., Zheng L. P., Li A. A., Meng F., Zhang Y., Zhang J., Liu X., Li T. Y., Zhu D. Y., Zhou Q. G. Design of fast-onset antidepressant by dissociating SERT from nNOS in the DRN. *Science.* 2022, vol. 378, no. 6618, pp. 390-398.
319. Sun W., Advani M., Spruston N., Saxe A., Fitzgerald J. E. Organizing memories for generalization in complementary learning systems. *Nat Neurosci.* 2023, vol. 26, no. 8, pp. 1438-1448.
320. Sung Y., Kaang B. K. The three musketeers in the medial prefrontal cortex: subregion-specific structural and functional plasticity underlying fear memory stages. *Exp Neurobiol.* 2022, vol. 31 no. 4, pp. 221-231.
321. Tafet G. E., Toister-Achituv M., Shinitzky M. Enhancement of serotonin uptake by cortisol: a possible link between stress and depression. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2001, vol. 1, no. 1, pp. 96-104.
322. Tao Y., Cai C. Y., Xian J. Y., Kou X. L., Lin Y. H., Qin C., Wu H. Y., Chang L., Luo C. X., Zhu D. Y. Projections from infralimbic cortex to paraventricular thalamus mediate fear extinction retrieval. *Neurosci Bull.* 2021, vol. 37, no. 2, pp. 229-241.
323. Tenen S. S. The effects of P-chlorophenylalanine, a serotonin depletor, on avoidance acquisition, pain sensitivity and related behavior in the rat. *Psychopharmacologia.* 1967, vol. 10, no. 3, pp. 204-219.
324. Terry N., Margolis K. G. Serotonergic mechanisms regulating the gi tract: experimental evidence and therapeutic relevance. *Handb Exp Pharmacol.* 2017, vol. 239, pp. 319-342.
325. Thompson B. M., Baratta M. V., Biedenkapp J. C., Rudy J. W., Watkins L. R., Maier S. F. Activation of the infralimbic cortex in a fear context enhances extinction learning. *Learn Mem.* 2010, vol. 17, no. 11, pp. 591-599.
326. Tops M., Russo S., Boksem M. A., Tucker D. M. Serotonin: modulator of a drive to withdraw. *Brain Cogn.* 2009, vol. 71, no. 3, pp. 427-436
327. Tortora F., Hadipour A. L., Battaglia S., Falzone A., Avenanti A., Vicario C. M. The role of serotonin in fear learning and memory: a systematic review of human studies. *Brain Sci.* 2023, vol. 13, no. 8, p. 1197.
328. Totty M. S., Tuna T., Ramanathan K. R., Jin J., Peters S. E., Maren S. Thalamic nucleus reuniens coordinates prefrontal-hippocampal synchrony to suppress extinguished fear. *Nat Commun.* 2023, vol. 14, no. 1, p. 6565.
329. Tovote P., Fadok J. P., Lüthi A. Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nat Rev Neurosci.* 2015, vol. 16, no. 6, pp. 317-331.

330. Trabace L., Kendrick K. M. Nitric oxide can differentially modulate striatal neurotransmitter concentrations via soluble guanylate cyclase and peroxynitrite formation. *J Neurochem.* 2000, vol. 75, no. 4, pp. 1664-1674.
331. Tran L., Lasher B. K., Young K. A., Keele N. B. Depletion of serotonin in the basolateral amygdala elevates glutamate receptors and facilitates fear-potentiated startle. *Transl Psychiatry.* 2013, vol. 3, no. 9.
332. Troconis E. L., Seo C., Guru A., Warden M. R. Serotonin neurons in mating female mice are activated by male ejaculation. *Curr Biol.* 2023, vol. 33, no. 22, pp. 4926-4936.
333. Twarog B. M., Page I. H. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *Am J Physiol.* 1953, vol. 175, no. 1, pp. 157-161.
334. Uliana D. L., Antero L. S., Borges-Assis A. B. Rosa J., Vila-Verde C., Lisboa S. F., Resstel L. B. Differential modulation of the contextual conditioned emotional response by CB1 and TRPV1 receptors in the ventromedial prefrontal cortex: Possible involvement of NMDA/nitric oxide-related mechanisms. *J Psychopharmacol.* 2020, vol. 34, no. 9, pp. 1043-1055.
335. De Vadder F., Grasset E., Mannerås Holm L., Karsenty G., Macpherson A. J., Olofsson L. E., Bäckhed F. Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018, vol. 115, no. 25, pp. 6458-6463.
336. Vanini G., Torterolo P. Sleep-Wake Neurobiology. *Adv Exp Med Biol.* 2021, vol. 1297, pp. 65-82.
337. Vanvossen A. C., Portes M. A. M., Scoz-Silva R., Reichmann H. B., Stern C. A. J., Bertoglio L. J. Newly acquired and reactivated contextual fear memories are more intense and prone to generalize after activation of prelimbic cortex NMDA receptors. *Neurobiol Learn Mem.* 2017, vol. 137, pp. 154-162.
338. Varga V., Losonczy A., Zemelman B. V., Borhegyi Z., Nyiri G., Domonkos A., Hangya B., Holderith N., Magee J. C., Freund T. F. Fast synaptic subcortical control of hippocampal circuits. *Science.* 2009, vol. 326, no. 5951, pp. 449-453.
339. Verberne A. J., Lewis S. J., Jarrott B., Louis W. J. Medial prefrontal cortical lesions and baroreceptor heart rate reflex sensitivity in the spontaneously hypertensive rat. *J. Hypertens.* 1988, vol. 6, no. 2, pp. 123-127.
340. Vertes R. P. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse.* 2004, vol. 51, no. 1, pp. 32-58.
341. Vertes R. P. Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience.* 2006, vol. 142, no. 1, pp. 1-20.

342. Vetere G., Restivo L., Novembre G., Aceti M., Lumaca M., Ammassari-Teule M. Extinction partially reverts structural changes associated with remote fear memory. *Learn Mem.* 2011, vol. 18, no. 9, 554-557.
343. Vidal-Gonzalez I., Vidal-Gonzalez B., Rauch S. L., Quirk G. J. Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learn Mem.* 2006, vol. 13, no. 6, pp. 728-733.
344. Vieira P. A., Corches A., Lovelace J. W., Westbrook K. B., Mendoza M., Korzus E. Prefrontal NMDA receptors expressed in excitatory neurons control fear discrimination and fear extinction. *Neurobiol Learn Mem.* 2015, vol. 119, pp. 52-62.
345. Vogt B. A., Paxinos G. Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain Struct Funct.* 2014, vol. 219, no. 1, pp. 185-192.
346. Voigt J. P., Fink H. Serotonin controlling feeding and satiety. *Behav Brain Res.* 2015, vol. 277, pp. 14-31.
347. Waider J., Popp S., Lange M. D., Kern R., Kolter J. F., Kobler J., Donner N. C., Lowe K. R., Malzbender J. H., Brazell C. J., Arnold M. R., Aboagye B., Schmitt-Böhrer A., Lowry C. A., Pape H. C., Lesch K. P. Genetically driven brain serotonin deficiency facilitates panic-like escape behavior in mice. *Transl Psychiatry.* 2017, vol. 7, no. 10.
348. Waider J., Popp S., Mlinar B., Montalbano A., Bonfiglio F., Aboagye B., Thuy E., Kern R., Thiel C., Araragi N., Svirin E., Schmitt-Böhrer A. G. Corradetti R., Lowry C. A., Lesch K. P. Serotonin deficiency increases context-dependent fear learning through modulation of hippocampal activity. *Front Neurosci.* 2019, vol. 13, p. 245.
349. Wang H., Wang Q., Cui L., Feng X., Dong P., Tan L., Lin L., Lian H., Cao S., Huang H., Cao P., Li X. M. A molecularly defined amygdala-independent tetra-synaptic forebrain-to-hindbrain pathway for odor-driven innate fear and anxiety. *Nat Neurosci.* 2024, vol. 27, no. 3, pp. 514-526.
350. Wang Q. P., Guan J. L., Nakai Y. Distribution and synaptic relations of NOS neurons in the dorsal raphe nucleus: a comparison to 5-HT neurons. *Brain Res Bull.* 1995, vol. 37, no. 2, pp. 177-187.
351. Wang X., Allen W. E., Wright M. A., Sylwestrak E. L., Samusik N., Vesuna S., Evans K., Liu C., Ramakrishnan C., Liu J., Nolan GP, Bava FA, Deisseroth K. Three-dimensional intact-tissue sequencing of single-cell transcriptional states. *Science.* 2018, vol. 361, no. 6400.
352. Warthen D. M., Lambeth P. S., Ottolini M., Shi Y., Barker B. S., Gaykema R. P., Newmyer B. A., Joy-Gaba J., Ohmura Y., Perez-Reyes E., Güler A. D., Patel M. K., Scott M. M. Activation of pyramidal neurons in mouse medial prefrontal cortex enhances food-seeking

- behavior while reducing impulsivity in the absence of an effect on food intake. *Front Behav Neurosci.* 2016, vol. 10, p. 63.
353. Watts S. W., Morrison S. F., Davis R. P., Barman S. M. Serotonin and blood pressure regulation. *pharmacological reviews.* 2012, vol. 64, no. 2, p. 359.
354. Weber E. T., Andrade R. Htr2a gene and 5-HT_{2A} receptor expression in the cerebral cortex studied using genetically modified mice. *Frontiers in Neuroscience.* 2010, vol. 4, p. 36.
355. Webler R. D., Berg H., Phong K., Tuominen L., Holt D. J., Morey R. A., Lange I., Burton P. C., Fullana M. A., Radua J., Lissek S. The neurobiology of human fear generalization: meta-analysis and working neural model. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* 2021, vol. 128, pp. 421–436.
356. Wegener G., Sâmia R. L. J. Nitric oxide in major depressive disorder. 2023, pp. 297–325.
357. Wegener G., Volke V., Rosenberg R. Endogenous nitric oxide decreases hippocampal levels of serotonin and dopamine in vivo. *British Journal of Pharmacology.* 2000, vol. 130, no. 3, p. 575.
358. Weisstaub N. V., Zhou M., Lira A., Lambe E., González-Maeso J., Hornung J. P., Sibille E., Underwood M., Itohara S., Dauer W. T., Ansorge M. S., Morelli E., Mann J. J., Toth M., Aghajanian G., Sealfon S. C., Hen R., Gingrich J. A. Cortical 5-HT_{2A} receptor signaling modulates anxiety-like behaviors in mice. *Science.* 2006, vol. 313, no. 5786, pp. 536–540.
359. Wellman C. L., Izquierdo A., Garrett J. E., Martin K. P., Carroll J., Millstein R., Lesch K. P., Murphy D. L., Holmes A. Impaired stress-coping and fear extinction and abnormal corticolimbic morphology in serotonin transporter knock-out mice. *Journal of Neuroscience.* 2007, vol. 27, no. 3, pp. 684–691.
360. Winocur G., Moscovitch M., Sekeres M. J. Factors affecting graded and ungraded memory loss following hippocampal lesions. *Neurobiology of Learning and Memory.* 2013, vol. 106, pp. 351–64.
361. Wouters M. M., Farrugia G., Schemann M. 5-HT receptors on interstitial cells of Cajal, smooth muscle and enteric nerves. *Neurogastroenterol Motil.* 2007, vol. 2, pp. 5-12.
362. Xia F., Richards B. A., Tran M. M., Josselyn S. A., Takehara-Nishiuchi K., Frankland P. W. Parvalbumin-positive interneurons mediate neocortical-hippocampal interactions that are necessary for memory consolidation. *Elife.* 2017, vol. 6, e27868.
363. Xu W., Südhof T. S. A neural circuit for memory specificity and generalization. *Science.* 2013, vol. 339, no. 6125, pp. 1290–1295.
364. Xu Z. Q., Hökfelt T. Expression of galanin and nitric oxide synthase in subpopulations of serotonin neurons of the rat dorsal raphe nucleus. *J Chem Neuroanat.* 1997, vol. 13, no. 3, pp. 169-187.

365. Yamamoto K., Takei H., Koyanagi Y., Koshikawa N., Kobayashi M. Presynaptic cell type-dependent regulation of GABAergic synaptic transmission by nitric oxide in rat insular cortex. *Neuroscience*. 2015, vol. 284, pp. 65-77.
366. Yan R., Huang T., Xie Z., Xia G., Qian H., Zhao X., Cheng L. Lmx1b controls peptide phenotypes in serotonergic and dopaminergic neurons. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2013, vol. 45, no. 5, pp. 345-52.
367. Yan Z., Rein B. Mechanisms of synaptic transmission dysregulation in the prefrontal cortex: pathophysiological implications. *Mol Psychiatry*. 2022, vol. 27, no. 1, pp. 445-465.
368. Yang S. S., Mack N. R., Shu Y., Gao W. J. Prefrontal gabaergic interneurons gate long-range afferents to regulate prefrontal cortex-associated complex behaviors. *Front Neural Circuits*. 2021, vol. 15, p. 716408.
369. Yang S. T., Shi Y., Wang Q., Peng J. Y., Li B. M. Neuronal representation of working memory in the medial prefrontal cortex of rats. *Mol Brain*. 2014, vol. 7, p. 61.
370. Yassa M. A., Stark C. E. Pattern separation in the hippocampus. *Trends Neurosci*. 2011, vol. 34, no. 10, pp. 515-525.
371. Yokoyama M., Suzuki E., Sato T., Maruta S., Watanabe S., Miyaoka H. Amygdalic levels of dopamine and serotonin rise upon exposure to conditioned fear stress without elevation of glutamate. *Neurosci Lett*. 2005, vol. 379, no. 1, pp. 37-41.
372. Yoshioka, Mitsuhiro, Machiko Matsumoto, Hiroko Togashi, and Hideya Saito. Effects of conditioned fear stress on 5-HT release in the rat prefrontal cortex. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1995, vol. 51, no. 2-3, pp. 515-19.
373. Zanoveli J. M., Carvalho M. C., Cunha J. M., Brandão M. L. Extracellular serotonin level in the basolateral nucleus of the amygdala and dorsal periaqueductal gray under unconditioned and conditioned fear states: an in vivo microdialysis study. *Brain Res*. 2009, vol. 1294, pp. 106-115.
374. Zelikowsky M., Bissiere S., Hast T. A., Bennett R. Z., Abdipranoto A., Vissel B., Fanselow M. S. Prefrontal microcircuit underlies contextual learning after hippocampal loss. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013, vol. 110, no. 24, pp. 9938-9943.
375. Zhang W. N., Bast T., Xu Y., Feldon J. Temporary inhibition of dorsal or ventral hippocampus by muscimol: distinct effects on measures of innate anxiety on the elevated plus maze, but similar disruption of contextual fear conditioning. *Behav Brain Res*. 2014, vol. 262, pp. 47-56.
376. Zhong P., Yuen E. Y., Yan Z. Modulation of neuronal excitability by serotonin-NMDA interactions in prefrontal cortex. *Mol Cell Neurosci*. 2008, vol. 38, no. 2, pp. 290-209.

377. Żmudzka E., Sałaciak K., Sapa J., Pytka K. Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies. *Life Sci.* 2018, vol. 210, pp. 106-124.
378. Zohar J., Westenberg H. G. Anxiety disorders: a review of tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2000, vol. 403, pp. 39-49.
379. Zou G. J., Chen Z. R., Wang X. Q., Cui Y. H., Li F, Li C. Q., Wang L. F., Huang F. L. Microglial activation in the medial prefrontal cortex after remote fear recall participates in the regulation of auditory fear extinction. *Eur J Pharmacol.* 2024, vol. 978, p. 176759.