
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

МОДУЛЯТОРЫ СЕРОТОНИНОВОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА КРЫС
С ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОЙ АГРЕССИЕЙ
ПО ОТНОШЕНИЮ К ЧЕЛОВЕКУ ИЛИ ЕЕ ОТСУТСТВИЕМ

© 2024 г. П. Д. Правикова^{1,*}, В. С. Москалюк¹, Д. В. Базовкина¹,
Р. В. Кожемякина¹, В. С. Науменко¹

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*E-mail: PollyPravi@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.09.2024 г.

После доработки 08.10.2024 г.

Принята к публикации 14.10.2024 г.

Исследование механизмов регуляции агрессивного поведения – одна из основных проблем нейрогенетики. Полученные путем многолетней селекции крысы (*Rattus norvegicus*) ручной и высокоагрессивной линий – удобная модель для изучения механизмов генетически детерминированного защитно-оборонительного поведения. Нейромедиатор серотонин (5-HT) контролирует множество форм поведения, в том числе агрессию. Активность 5-HT-системы мозга регулируется не только ее собственными элементами, например, 5-HT1A- и 5-HT7-рецепторами, но и различными модуляторами. Среди их множества особое место занимают следовые амины, основной рецептор которых, TAAR1, локализуется на 5-HT-нейронах пре- и постсинаптически. Оксид азота также является перспективным модулятором, синтез которого в мозге активируется преимущественно нейрональной NO-синтазой (NOS1). Нами исследован уровень экспрессии NOS1 и TAAR1 в сопоставлении с уровнем 5-HT, его основного метаболита (5-ГИУК) и мРНК 5-HT-рецепторов (*Htr1a*, *Htr7*), а также с экспрессией и активностью TPH2 в среднем мозге, гиппокампе, гипоталамусе и фронтальной коре ручных и агрессивных крыс. У агрессивной линии по сравнению с ручной выявлен сниженный уровень мРНК *Htr1a* в среднем мозге и гипоталамусе, тогда как во фронтальной коре – повышенная экспрессия гена *Htr7*. Вместе с тем не выявлены межлинейные различия в уровне белка TAAR1 в исследуемых структурах мозга. При этом у высокоагрессивных крыс в среднем мозге и гиппокампе установлен увеличенный уровень мРНК *Taar1*, тогда как в гипоталамусе и фронтальной коре он не детектировался вне зависимости от уровня агрессивности. Самые значимые изменения 5-HT-системы у агрессивных крыс установлены во фронтальной коре: увеличенный индекс 5-HT метаболизма вследствие роста уровня 5-ГИУК. Установлена обратная корреляция между индексом метаболизма 5-HT и экспрессией NOS1. Нами предположено, что NOS1/NO-система – индикатор функциональной активности 5-HT-системы в условиях генетически детерминированной агрессии.

Ключевые слова: генетически детерминированное агрессивное поведение, 5-HT-система, TPH2, TAAR1, нейрональная NO-синтаза, крысы

DOI: 10.31857/S0869813924120031, **EDN:** VGBWDC

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на “великое” снижение преступности (The Great Crime Decline), наблюдавшееся во многих развитых странах Западного мира с начала 1990-х годов [1], исследование механизмов регуляции агрессивного поведения остается одной из центральных проблем современной нейрофизиологии. С одной стороны, повышенная агрессивность и импульсивность поведения человека – отличительная черта, например, антисоциального и пограничного расстройства личности (DSM-5). С другой стороны, низкая агрессивность является необходимым условием для доместикации животных: Беляев выдвинул идею о том, что доместикация в первобытные времена представляла фактически неосознанный отбор на низкую агрессивность по отношению к человеку [2], генетические аспекты которой уже многие годы целенаправленно изучаются [3].

Серотонин (5-HT), классический медиатор мозга, по праву считается одним из основных регуляторов различных форм поведения, в том числе агрессивного [4], ввиду своей полифункциональности, обусловленной, прежде всего, наличием многочисленных рецепторов, опосредующих трансдукцию его сигнала [5]. Среди большого разнообразия 5-HT-рецепторов особое внимание привлекает 5-HT1A-рецептор (5-HT1AR) в связи с его ключевой ролью в механизме ауторегуляции 5-HT-системы по принципу отрицательной обратной связи: активация как пре- [6], так и постсинаптических 5-HT1AR [7] приводит к снижению спонтанной активности серотонинергических нейронов среднего мозга [8]. На различных моделях животных было установлено тормозное влияние агонистов 5-HT1AR на агрессивное поведение [9, 10], тогда как у селекционированных на высокую агрессивность крыс было выявлено снижение как функциональной активности 5-HT1AR, так и плотности рецепторов в структурах кортико-лимбической системы [11], ответственной за регуляцию агрессивного поведения [12]. Вместе с тем 5-HT7-рецептор (5-HT7R) локализуется как в пре-, так и в постсинаптических областях 5-HT-системы, участвует в регуляции не только целого ряда физиологических функций, но и является удачной мишенью для коррекции многих патологических форм поведения [13]. При этом, несмотря на отсутствие убедительных доказательств о связи 5-HT7R и агрессии, но принимая во внимание его возможность менять трансдукцию сигнала 5-HT1AR и, формируя с ним гетеродимерные комплексы [14], можно предположить о его модулирующей роли, в том числе в реализации агрессивного поведения.

Триптофангидроксилаза-2 (TPH2) – основной фермент синтеза 5-HT мозга. Активность и экспрессия TPH2 зачастую изменяется в ответ на различные изменения работы 5-HT рецепторной системы, например на десенситизацию 5-HT1AR [15, 16]. В предыдущих исследованиях было установлено участие TPH2 в контроле межсамцовой агрессии [17, 18]. Оксид азота (NO) в мозге рассматривается в качестве неканонического нейротрансмиттера и модулятора, в том числе функциональной активности 5-HT-системы. Растет число данных, свидетельствующих о роли нейрональной NO-синтазы (nNOS, NOS1) в регуляции синтеза 5-HT посредством влияния на активность TPH2 [19, 20]. Ранее было установлено, что nNOS^{-/-} мыши проявляют черты импульсивного поведения вследствие снижения обмена 5-HT [21], что указывает на важность NO-системы в поддержании 5-HT-нейротрансмиссии. При этом роль NOS1/NO-системы в генетически детерминированном защитно-оборонительном поведении до сих пор не исследована.

Устойчивость работы любой регуляторной системы у высших животных зависит от функционирования механизмов, модулирующих эффект основного стимулирующего фактора. Следовые амины (СА) – относительно новая сигнальная система, включающая в себя сходные по структуре к катехоламинам и серотонину биогенные амины [22]. Аналогично количественному соотношению тканевых аутакоидов и гормонов СА

содержатся в мозге в достаточно низкой концентрации по сравнению с классическими моноаминалами [23]. Наиболее распространенным и изученным рецептором следовых аминов является TAAR1, который экспрессируется, в том числе в 5-НТ-нейронах дорзального ядра шва [24], что указывает на его возможную роль в модуляции 5-НТ-системы. О вовлечении рецепторов TAAR1 в регуляцию агрессивного поведения свидетельствуют полученные на мышах TAAR1^{-/-} данные об увеличении межсамцовой агрессии на фоне роста содержания 5-НТ в кортикальных структурах мозга [25], в то же время на сегодняшний день отсутствуют данные об участии TAAR1 в механизмах генетически детерминированной защитно-оборонительной агрессии.

В продолжение беспрецедентного эксперимента Беляева по доместикации лисиц в г. Новосибирске в 1970-е годы было предпринято исследование по целенаправленному “одомашниванию” серых крыс (*Rattus norvegicus*), результатом которого стало выведение ручной линии и крыс с генетически детерминированной защитно-оборонительной агрессией. Достаточно большой массив экспериментальных данных, полученных на ручных и агрессивных крысах, подтверждает участие 5-НТ-системы в регуляции выраженности защитно-оборонительной реакции по отношению к человеку [11, 26, 27], при этом на сегодняшний день отсутствуют результаты, касающиеся роли потенциальных модуляторов 5-НТ-системы в формировании и контроле агрессивности у данных модельных объектов.

Таким образом, целью данной работы стало исследование уровня экспрессии ключевых звеньев сигнальных каскадов NO и CA, NOS1 и TAAR1 соответственно в среднем мозге, гиппокампе, гипоталамусе и фронтальной коре крыс ручной и агрессивной линий и сопоставление полученных данных с различиями в функциональном состоянии 5-НТ-системы мозга этих животных.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на взрослых самцах крыс-пасюков (*Rattus norvegicus*), селекционированных в течение 98 поколений в Институте цитологии и генетики СО РАН в Новосибирске на высокий уровень агрессии по отношению к человеку (агрессивные) и ее отсутствие (ручные) [28]. Крысы содержались в металлических клетках (50 × 33 × 20 см) по четыре особи в стандартных лабораторных условиях вивария конвенциональных животных Института цитологии и генетики СО РАН (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023) при естественном освещении и со свободным доступом к воде и пище. Агрессивность и ручное поведение определяли по выраженной реакции на перчатку (glove-test) по разработанной ранее четырехбалльной шкале [29]. У селекционируемых агрессивных крыс агрессивно-оборонительная реакция соответствовала: -3.4 ± 0.06 балла, для ручных крыс -3.4 ± 0.08 балла, что является показателем высокой степени приученности (достоверность межлинейных различий: $F_{(1,14)} = 4377.2, p < 0.001$). Животных аутобредной линии интактных ручных и агрессивных крыс (по 8 животных в каждой экспериментальной группе) в возрасте шести месяцев и массой тела 350–400 г выводили из эксперимента методом декапитации, извлекали на льду средний мозг, гиппокамп, гипоталамус и фронтальную кору, замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C .

ОТ-ПЦР.

Выделение общей РНК

Общая РНК была выделена с помощью TRIzol Reagent (“Lifetechnologies”, США) в соответствии с инструкцией производителя. Полученную РНК разводили водой до концентрации 0.125 мкг/мкл и хранили при -70°C . Присутствие примесей геномной ДНК в препаратах РНК определяли в соответствии с протоколом, описанным ранее [30–32].

Обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция. Обратную транскрипцию и количественную ПЦР в реальном времени проводили согласно протоколу, подробно описанному ранее [30–32]. Использовали два типа стандартов: внешний и внутренний. Внутренний стандарт (мРНК *Polr2a*) применяли для контроля обратной транскрипции в качестве основы для расчета уровня мРНК исследуемых генов. Внешним стандартом служила ДНК, выделенная из гепатоцитов самца крысы линии Wistar известной концентрации, что позволяло контролировать ПЦР и определять число копий мРНК исследуемых генов на 100 копий *Polr2a* в образцах. Праймеры, используемые для амплификации кДНК исследуемых генов (табл. 1), разработаны на основе последовательностей, опубликованных в базе данных Ensembl database, и синтезированы в компании “БИОССЕТ”, Россия.

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров и их характеристики

Ген	Нуклеотидная последовательность	Тотж., °С	Длина продукта ПЦР, п.н.
rPol2	F 5'-ttgtcgggcagcagaacgtg-3' R 5'-caatgagacccttcgtccccc-3'	64	186
Nos1	F 5'- gcgaggcagagcgcccattat -3' R 5'- ttgggtggaggaccgaggg-3'	64	240
Tph2	F 5'-cccaggcagatgaccattcag-3' R 5'-ggaattgtgtgagaatgtggc-3'	59	145
Htr1a	F 5'-ctgtcactctgcctacttctg-3' R 5'-ccagagcacataacccagagt-3'	62	175
Htr7	F 5'-tgatctcggtgtgcctcg-3' R 5'-gtgacactaacgaaaggcatgac-3'	61	115
Taar1	F 5'-caagttggattggaagggaaagc-3' R 5'-tcagagtgggtggataacatagc-3'	62	163

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Содержание 5-НТ и его метаболита 5-ГИУК (5-гидроксинацелукусусная кислота) в мозге оценивали методом ВЭЖХ на колонке Luna C18(2) (размер частиц 5 мкм, L × I.D. 100 × 4.6 мм, “Penomenex”, США) с электрохимическим обнаружением (750 мВ, DECADE II™ электрохимический детектор; “Antec”, Нидерланды) по протоколу, описанному ранее [33]. Для построения калибровочной кривой стандартов использовали 1, 2 и 3 нг каждого исследуемого вещества (“Sigma Aldrich”). Высота пиков была оценена при помощи программы LabSolution LG/GC (“Shimadzu”, США) и калибрована на соответствующий внешний стандарт. Концентрации 5-НТ и 5-ГИУК выражали в нг на мг белка, определяемому методом Брэдфорда.

Активность TPH2

По описанному ранее протоколу [34] аликвоту супернатанта инкубировали в конечном объеме 25 мкл 15 мин при 37 °C с L-триптофаном (0.4 мМ) (“Sigma-Aldrich”, США), кофактором 6-метил-5,6,7,8-тетрагидроптерин дигидрохлоридом (0.3 мМ) (“Sigma-Aldrich”, США), 25 ЕД каталазы (“Sigma-Aldrich”, США), 0.3 мМ м-гидроксибензилгидразином в качестве ингибитора декарбоксилазы (“Sigma-Aldrich”, США) и 1 мМ дитиотреитолом (“Sigma-Aldrich”, США). Реакцию останавливали добавлением 0.6 М HClO4. После инкубации центрифугировали при 12000 об/мин для осаждения белка, затем отбирали супернатант для определения уровня 5-гидрокситриптофана (5-HTP) методом ВЭЖХ (см. выше), используя 25, 50 и 100 пмоль 5-HTP в качестве стандартов. Активность TPH2 оценивали как пмоль 5-HTP, образованного за одну минуту, на 1 мг белка, определяемого по протоколу Брэдфорда.

Вестерн-блот анализ. Уровень белков TPH2, NOS1, TAAR1 определяли с помощью вестерн-блот анализа, как описано ранее [29]. Белок разделяли с помощью SDS-PAGE гель-электрофореза в 10%-ном разделяющем геле. На одну дорожку наносили 20 мкг для TPH2 и 30 мкг для NOS1 и TAAR1 общего белка. Белок TPH2 детектировали на 56 кДа с помощью поликлональных антител кролика ab184505 (Abcam, Великобритания) в разведении 1 : 1000 в молоке, NOS1 – на 160 кДа с помощью поликлональных антител кролика AF5129 (Affinity Biosciences, КНР) в разведении 1 : 1000 в FBS (фетальная бычья сыворотка), TAAR1 – на ~ 37–40 кДа с помощью поликлональных антител кролика DF10274 (Affinity Biosciences, КНР) в разведении 1 : 2000 в FBS. Уровень целевого белка нормировали на уровень белка GAPDH (детектировался на 37 кДа с помощью поликлональных антител кролика ab9485 (Abcam, Великобритания) в разведении 1 : 2000 в FBS.

Статистический анализ

Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибка среднего ($m \pm SEM$). Проверка значимости генотипа крыс (наличие или отсутствие защитно-оборонительной реакции по отношению к человеку) осуществлялась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Достоверность различий оценивали в программе Statistica 12.0 с помощью апостериорного критерия Тьюки (Tukey HSD test). Достоверными считались различия при критерии значимости $p < 0.05$. Нормальность распределения проверялась с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Критерий Диксона использовался для выявления и исключения крайних отклонений из анализа. С помощью коэффициента r -Пирсона проверялась корреляция между уровнем белка NOS1 и уровнем 5-HT и 5-ГИУК, а также индексом метаболизма 5-HT (сопоставление 5-ГИУК к 5-HT).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У агрессивных крыс по сравнению с ручными особями уровень активности TPH2 был снижен в гиппокампе ($F_{(1,14)} = 4.45, p = 0.05$) и гипоталамусе ($F_{(1,14)} = 12.96, p = 0.003$), в то время как в среднем мозге ее уровень оставался без существенных изменений ($F_{(1,14)} = 1.42, p = 0.25$), при этом во фронтальной коре была установлена тенденция к повышению ($F_{(1,14)} = 3.93, p = 0.06$) (см. рис. 1b). Установленный пониженный уровень активности TPH2 у агрессивных крыс в гипоталамусе сопровождался сниженным уровнем мРНК гена *Tph2* (см. рис. 1a) ($F_{(1,14)} = 7.3, p = 0.02$), в то время как уровень белка как TPH2 в исследуемых структурах мозга существенно не различался у агрессивных крыс по сравнению с ручными ($F_{(1,12)} = 1.14, p = 0.31$ – средний мозг; $F_{(1,12)} = 0.04, p = 0.85$ – гиппокамп; $F_{(1,12)} = 0.61, p = 0.45$ – гипоталамус; $F_{(1,14)} = 0.48, p = 0.5$ – фронтальная кора) (см. рис. 1b). При этом уровень белка TPH2, а также актив-

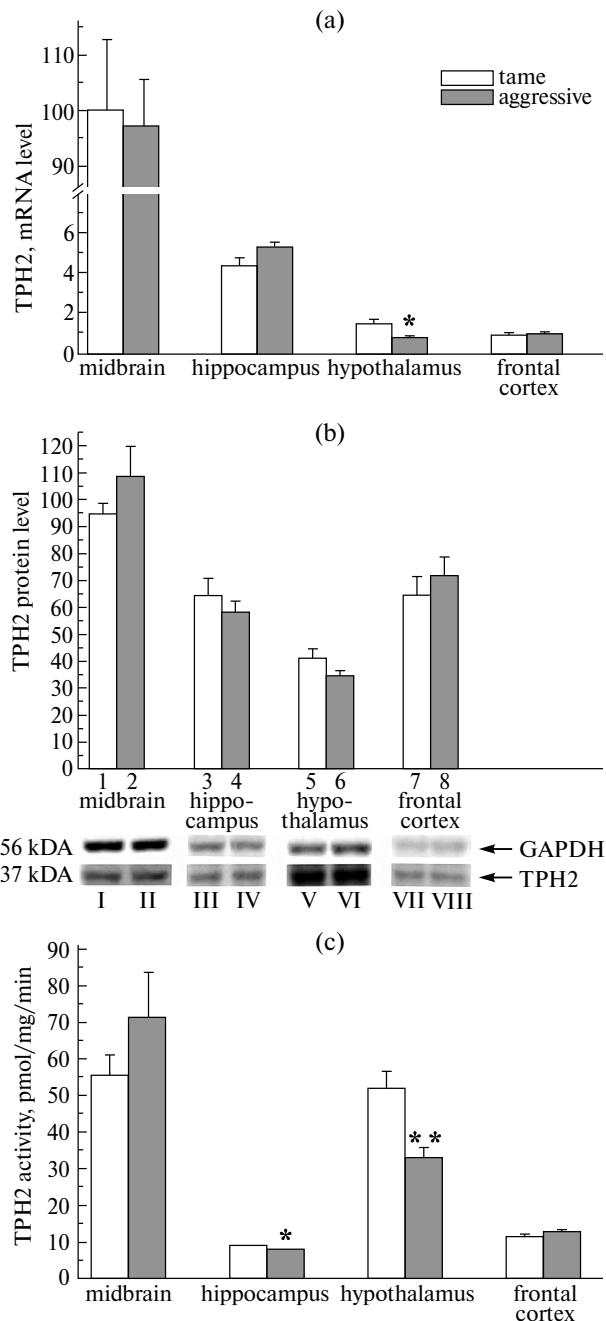


Рис. 1. Уровень мРНК гена *Tph2* (а), белка TPH2 (б), а также активность TPH2 (с) в структурах мозга у ручных и агрессивных крыс.

Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – сравнение ручных и агрессивных крыс. Здесь и на рис. 2, 4, 5: экспрессия гена представлена как число копий кДНК соответствующего гена на 100 копий кДНК *Polr2a*, $n = 8$. Здесь и на рис. 2, 5: уровень белка оценивали в относительных единицах хемилюминесценции и нормировали на уровень белка GAPDH. Обозначение на мембране иммуноблоттинга: I, III, V, VII – ручные крысы; II, IV, VI, VIII – агрессивные крысы.

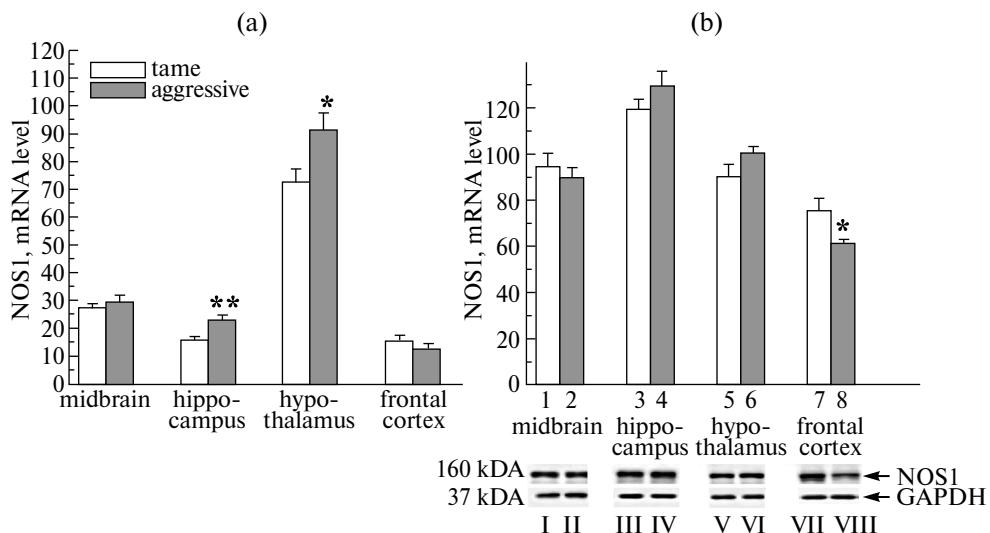


Рис. 2. Уровень мРНК гена *Nos1* (а) и белка NOS1 (б) в структурах мозга у ручных и агрессивных крыс. Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – сравнение ручных и агрессивных крыс. Обозначение на мемbrane иммуноблоттинга: I, III, V, VII – ручные крысы; II, IV, VI, VIII – агрессивные крысы.

нность фермента и его экспрессия были закономерно выше в среднем мозге по сравнению с другими структурами (см. рис. 1).

Установленная сниженная степень ферментативной активности TPH2 в гиппокампе ($F_{(1,12)} = 10.12, p = 0.008$) и гипоталамусе ($F_{(1,11)} = 6.54, p = 0.03$) у агрессивных крыс сопровождалось увеличенным уровнем мРНК гена *Nos1*, кодирующего нейрональную NO-синтазу (см. рис. 2а). При этом уровень белка NOS1 в данных структурах мозга не имел межлинейных различий ($F_{(1,13)} = 1.42, p = 0.25$ – гиппокамп; $F_{(1,13)} = 2.73, p = 0.12$ – гипоталамус), тогда как во фронтальной коре выявлен достоверно сниженный уровень белка ($F_{(1,11)} = 4.63, p = 0.05$) (см. рис. 2б) на фоне тенденции к повышенной активности TPH2 ($F_{(1,14)} = 3.93, p = 0.06$) (см. рис. 1с).

Содержание 5-НТ во всех исследуемых структурах мозга существенно не отличалось у агрессивных крыс по отношению к ручной линии ($F_{(1,13)} = 2.22, p = 0.16$ – средний мозг; $F_{(1,14)} = 0.74, p = 0.40$ – гипоталамус; $F_{(1,14)} = 1.74, p = 0.21$ – фронтальная кора) (рис. 3а), при этом в гиппокампе у агрессивной линии была установлена тенденция к снижению ($F_{(1,14)} = 3.16, p = 0.09$). Между тем уровень основного метаболита серотонина, 5-ГИУК, у агрессивных крыс был существенно выше в гиппокампе и во фронтальной коре ($F_{(1,14)} = 8.7, p = 0.01$ – гиппокамп; $F_{(1,13)} = 8.53, p = 0.01$ – фронтальная кора) (рис. 3б), тогда как индекс метаболизма серотонина, определяемого как соотношение 5-ГИУК к 5-НТ, был увеличен лишь во фронтальной коре ($F_{(1,13)} = 9.11, p = 0.01$) (см. рис. 3с).

Уровень мРНК гена *Htr1a*, кодирующего 5-HT1AR, был снижен у агрессивных крыс в среднем мозге ($F_{(1,12)} = 19.95, p = 0.0008$) и в гипоталамусе ($F_{(1,13)} = 9.79, p = 0.008$) (рис. 4а), в то время как межлинейные различия в уровне экспрессии 5-HT7R были зафиксированы только во фронтальной коре: у агрессивных крыс был установлен увеличенный уровень мРНК гена *Htr7* ($F_{(1,12)} = 8.03, p = 0.015$) (см. рис. 4б).

Уровень мРНК гена *Taar1*, кодирующего основной рецептор следовых аминов, детектировался у крыс с генетически детерминированным защитно-оборонитель-

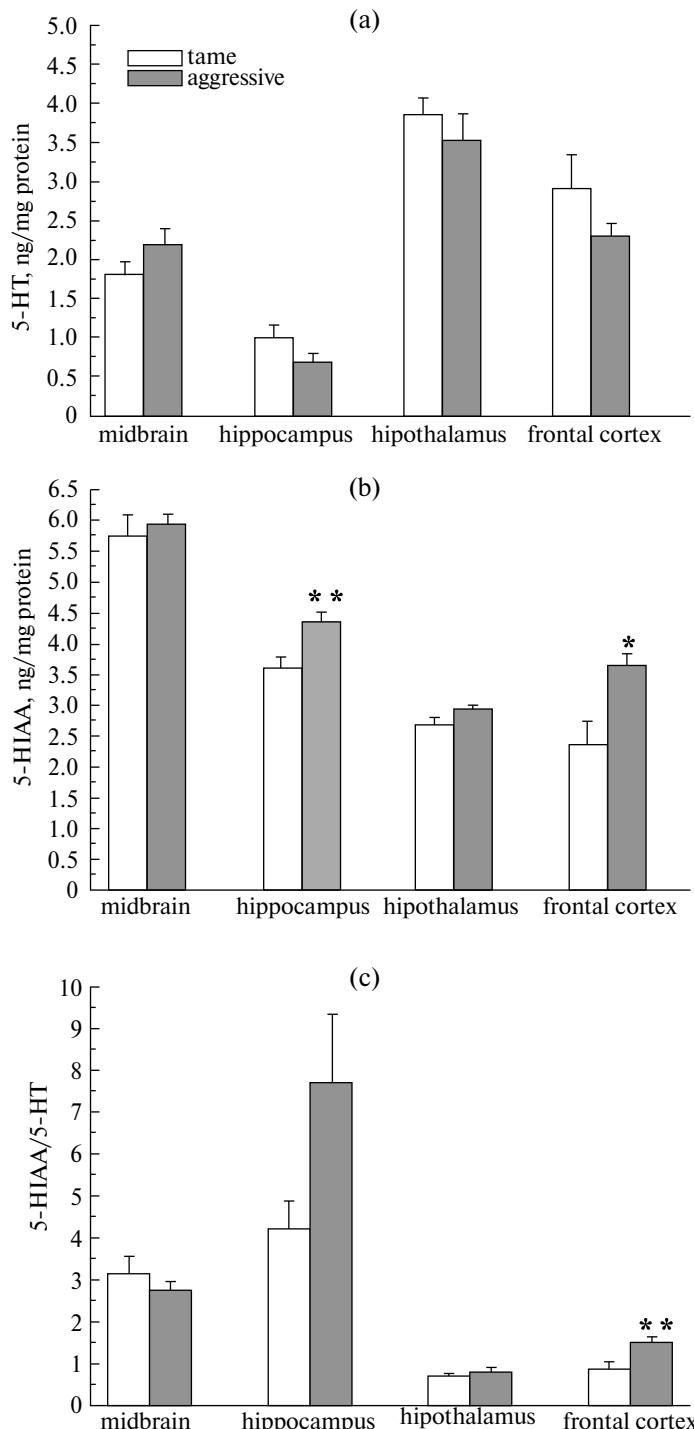


Рис. 3. Уровень 5-HT (а), 5-ГИУК (б) и соотношение 5-ГИУК/5-НТ (с) в структурах мозга у ручных и агрессивных крыс.

Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – сравнение ручных и агрессивных крыс.

ным поведением по отношению к человеку и его отсутствием только в среднем мозге и в гиппокампе, при этом уровень экспрессии *Taar1* в данных структурах мозга был существенно выше у агрессивных крыс ($F_{(1,14)} = 9.55, p = 0.008$ – средний мозг; $F_{(1,12)} = 6.57, p = 0.02$ – гиппокамп) (рис. 5а). В то же время уровень белка TAAR1 определялся во всех исследуемых структурах мозга, но при этом не имел межлинейных различий (см. рис. 5б). Кроме того, в месте предполагаемого детектирования TAAR1 (~37–40 кДА) данные иммуноблоттинга выявили 2 полосы (массой ~37 и 39 кДА), которые были наиболее выражены во фронтальной коре, где их соотношение (более тяжелой формы к менее тяжелой: 39 к 37 кДА) было больше единицы (см. рис. 5б).

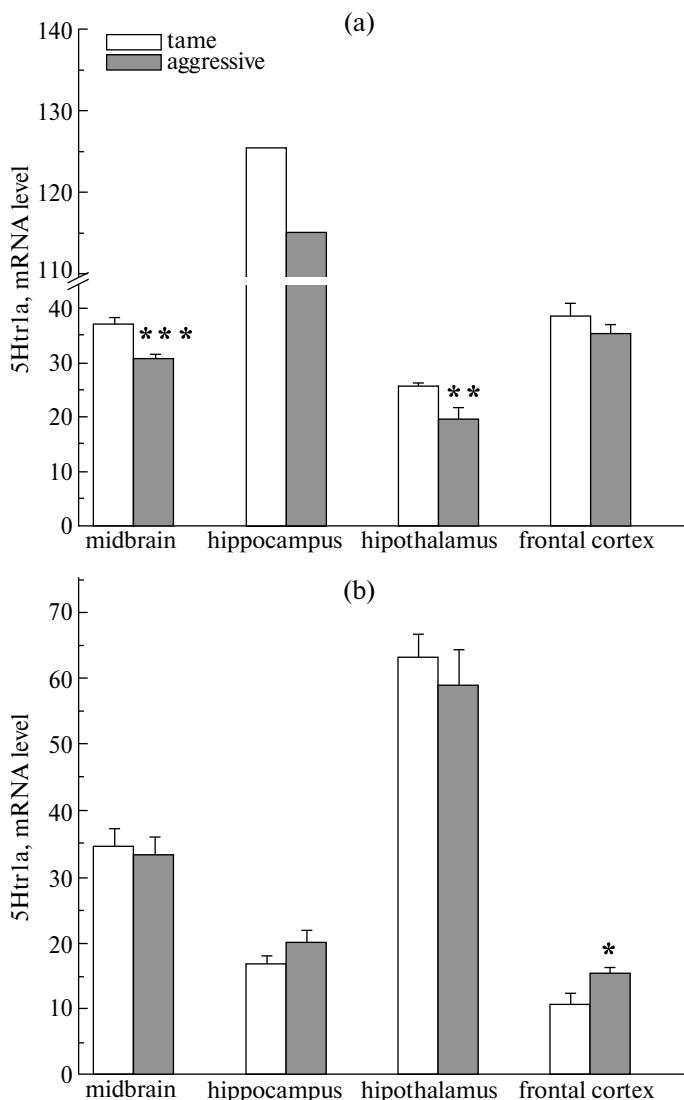


Рис. 4. Уровень мРНК генов *Htr1a* (а), *Htr7* (б) в структурах мозга у ручных и агрессивных крыс. Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – сравнение ручных и агрессивных крыс.

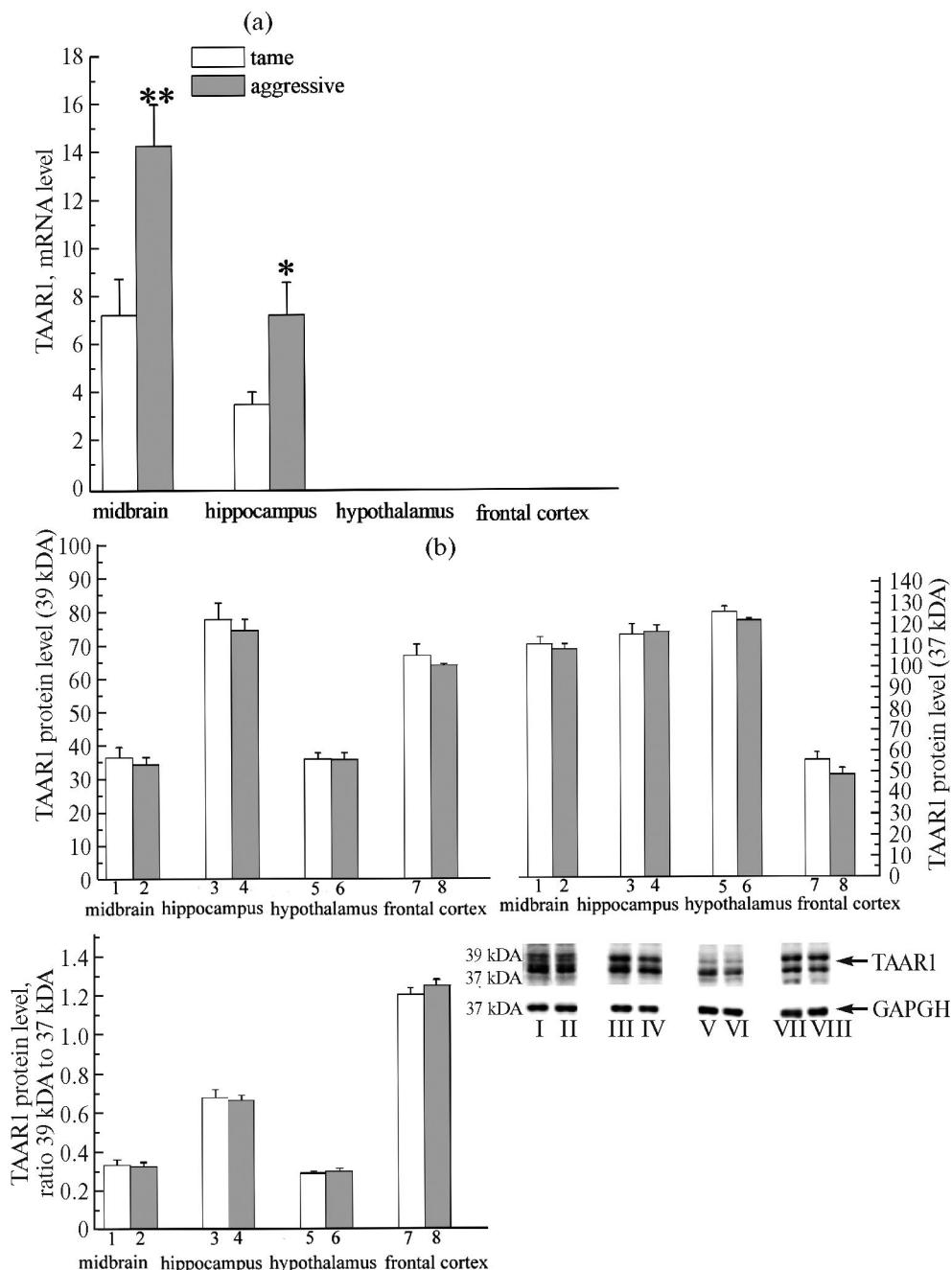


Рис. 5. Уровень мРНК гена *Taar1* (а) и белка TAAR1(б) в структурах мозга у ручных и агрессивных крыс.

Достоверность различий: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – сравнение ручных и агрессивных крыс.

Обозначение на мембране иммуноблоттинга: I, III, V, VII – ручные крысы; II, IV, VI, VIII – агрессивные крысы.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Поскольку на сегодняшний день получено достаточное количество данных, подтверждающих рольmonoаминовыхнейротрансмиттерныхсистемвконтролеагрессивныхреакций[35,36],не вызывает сомнения участие 5-НТ-системы мозга в формировании и поддержании различных форм агрессивности, в том числе генетически детерминированного защитно-оборонительного поведения. Учитывая данные об участии основного фермента синтеза 5-НТ мозга, ТРН2, в контроле межсамцовой агрессии [18], представляла интерес оценка уровня экспрессии и активности данного фермента у агрессивных крыс по сравнению с ручными в основных структурах кортико-лимбической системы. Ранее у крыс с генетической предрасположенностью к отсутствию защитно-оборонительной реакции по отношению к человеку была установлена повышенная активность ТРН2 в среднем мозге по сравнению с диким типом [37]. В данной работе нами впервые зафиксирована сниженная активность ТРН2 в гиппокампе и гипоталамусе у высокоагрессивных крыс, тогда как уровень экспрессии гена *Trh2* снижался у них только в гипоталамусе (табл. 2). Поскольку неканонический нейромедиатор NO модулирует 5-НТ нейротрансмиссию, влияя в том числе на активность ТРН2 [19, 20], уровень экспрессии основной NO-синтазы мозга, NOS1, можно рассматривать в качестве потенциального индикатора функциональной активности 5-НТ-системы мозга. Известно, что стимуляция активности NOS1/NO-системы способствует развитию нитрозативного стресса и образованию аниона пероксинитрита (ONO[•]), снижающего активность ТПГ2 в результате ее нитрозилирования [38, 39]. Вместе с тем выявленное нами снижение активности ТРН2 у агрессивной линии в гипоталамусе и гиппокампе, по всей видимости, не связано с изменением активности NO/NOS1-системы, поскольку, несмотря на увеличение уровня мРНК *Nos1*, содержание белка NOS1 не имело межлинейных различий в исследуемых структурах мозга (табл. 2). При этом на фоне изменения в гипоталамусе как активности ТРН2, так и уровня ее экспрессии у агрессивных крыс не было установлено существенных изменений в уровне метаболизма 5-НТ, что, возможно, связано с низким базальным уровнем мРНК *Trh2*. В гиппокампе у агрессивных крыс снижение активности ТРН2 также не приводило к существенным изменениям уровня 5-НТ, была установлена лишь тенденция к снижению. Можно предположить, что отсутствие межлинейных различий в уровне метаболизма 5-НТ-системы в гиппокампе является следствием компенсаторных механизмов, предотвращающих функциональные изменения системы 5-НТ. Ранее на животных 78-го поколения установлено, что у ручных крыс уровень глюокортикоида (ГК), кортикостерона, был существенно ниже по сравнению с агрессивными животными [40]. Известно, что высокая концентрация ГК может стимулировать синтез NO и приводить к снижению функциональной активности 5-HT1AR [41, 42]. При этом несмотря на отсутствие межлинейных различий в уровне мРНК *Htr1a* в гиппокампе (см. табл. 2), ранее зафиксировано увеличение уровня белка 5HT1AR у агрессивной линии [27], что, вероятно, способствует подавлению чрезмерного синтеза и активности NO вследствие активации 5-HT1AR на постсинаптическом уровне [43].

У людей нарушения работы префронтальной коры различного генеза нередко сопровождаются аномалиями социального поведения, характеризующимися в том числе повышенной агрессивностью [44]. У грызунов медиальная префронтальная кора (mPFC) модулирует межсамцовую агрессию: оптогенетическое подавление mPFC приводит к повышению агрессии, тогда как активация, напротив, к снижению [45]. Ранее было установлено, что уровень 5-НТ снижается в mPFC после как острой конфронтации, так и после повторных сражений [46, 47], а стимуляция 5-HT1A/5-HT1B-рецепторов уменьшает степень агрессивного поведения у мышей [48]. Эти данные не противоречат нашим результатам, согласно которым самые значимые изменения в уровне метаболизма 5-НТ у агрессивных крыс выявлены во фронтальной коре: за-

Таблица 2. Суммарные изменения 5-HT-системы и ее модуляторов (NOS1 и TAAR1) у агрессивной линии крыс по сравнению с ручной

Параметр/ структура	Средний мозг	Гиппокамп	Гипоталамус	Фронтальная кора
Tph2 мРНК	НД	НД	↓	НД
TPH2	НД	НД	НД	НД
TPH2-активность	НД	↓	↓	↑
<i>Nos1</i> мРНК	НД	↑	↑	НД
NOS1	НД	НД	НД	↓
Htr1a мРНК	↓	НД	↓	НД
Htr7 мРНК	НД	НД	НД	↑
Taar1 мРНК	↑	↑	Не детектируется	Не детектируется
TAAR1 (37 кДА)	НД	НД	НД	НД
TAAR1 (39 кДА)	НД	НД	НД	НД
TAAR1 (39 кДА к 37 кДА)	НД	НД	НД	НД
5-HT	НД	♦	НД	НД
5-ГИУК	НД	↑	НД	↑
5-ГИУК/5-HT	НД	НД	НД	↑

Примечание. НД – нет достоверности; ↑ / ↓ – достоверное повышение/понижение; ♦ / ♦ – тенденция к повышению/понижению.

фиксировано повышение индекса метаболизма 5-HT вследствие увеличения содержания основного метаболита 5-HT, 5-ГИУК (см. табл. 2). При этом установленное здесь повышение уровня метаболизма 5-HT, отражавшее, очевидно, изменения в его нейротрансмиссии, сопровождалось снижением уровня белка NOS1. Установлена статистически значимая обратная корреляция между уровнем белка NOS1 и основного метаболита серотонина, 5-ГИУК, а также индексом метаболизма 5-HT (5-ГИУК/5-HT) во фронтальной коре у ручных и агрессивных крыс (рис. 6а, б). Вместе с тем, вопреки ожиданию, во фронтальной коре высокоагрессивных крыс не было зафиксировано изменений ни экспрессии TPH2, ни ее активности (зафиксирована лишь тенденция к повышению). Как известно, NOS1/NO/cGMP-система может оказывать влияние на экспрессию как TPH2, так и МАО. Так, на нокаутных *NOS1*-/- мышах с повышенной агрессивностью выявлено увеличение экспрессии *Maoa* во фронтальной коре [49], что, по мнению авторов, является компенсаторным механизмом. В то же время экспрессия МАО-В регулируется в том числе транскрипционным фактором CREB [50], фосфорилирование которого снижается под действием NOS1 [51]. В свою очередь, CREB – важное звено BDNF-системы, которая участвует в регуляции нейрогенеза и синаптической пластичности. Ранее на агрессивных крысах 85-го поколения зафиксировано увеличение соотношения зрелой формы BDNF (mBDNF) к его предшественнику (proBDNF) во фронтальной коре [52], что может быть индикатором усиления нейрогенеза. Таким

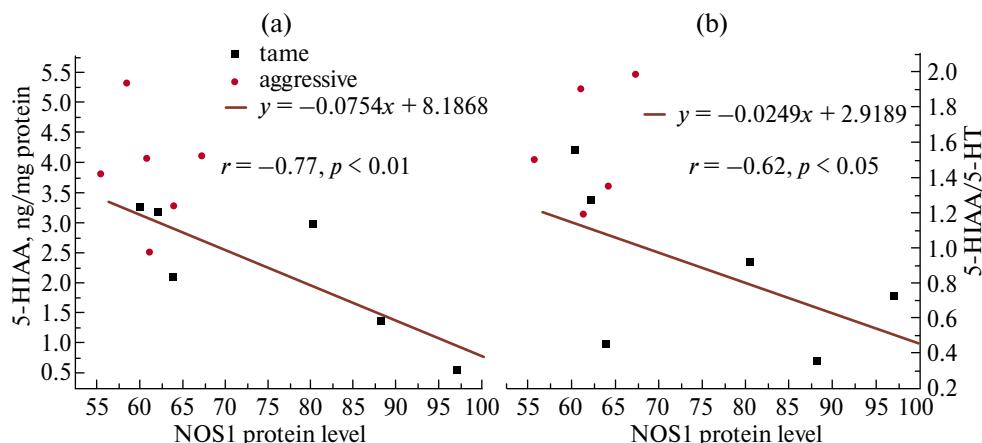


Рис. 6. Корреляция между уровнем белка NOS1 и уровнем 5-ГИУК (а), а также соотношением 5-ГИУК/5-НТ (б) во фронтальной коре у ручных и агрессивных крыс.

На графике приведено уравнение и указан коэффициент r -Пирсона (r).

образом, опосредованное через CREB подавление экспрессии NOS1 может приводить к стимуляции транскрипции MAO-B, усиливая тем самым скорость метаболизма 5-НТ, а также стимулировать нейротрофические процессы.

Наряду с классическими моноаминами СА относятся к группе биогенных аминов и являются многообещающим звеном в модуляции 5-НТ-системы мозга. Основной рецептор следовых аминов, TAAR1, экспрессируется в том числе в регионах локализации 5-НТ-нейронов [24]. Ранее уже была установлена роль TAAR1 в механизмах регуляции межсамцовой агрессии [25]. В данной работе нами впервые зафиксирован повышенный уровень экспрессии гена *Taar1* как в среднем мозге, так и в гиппокампе у крыс с генетически детерминированной защитно-оборонительной агрессией по отношению к человеку. Интересно, что в гипоталамусе и во фронтальной коре наличие мРНК *Taar1* не детектировалось вне зависимости от генетической предрасположенности к агрессивному поведению (см. табл. 2). Вместе с тем по уровню белка TAAR1, выявленному во всех исследуемых структурах мозга, межлинейных различий обнаружено не было (см. табл. 2). Крайне важно отметить, что согласно полученным нами данным иммуноблоттинга, регистрировались 2 полосы (от ~ 37 кДА до ~ 40 кДА), причем выраженность их зависела от анализируемой структуры мозга. Ранее на другом модельном объекте, макаке-резус, также были выявлены 2 полосы в месте предполагаемого детектирования TAAR1 [53]. Поскольку известно, что рецепторы TAAR1 преимущественно цитозольные [54], мы предполагаем, что более тяжелая детектируемая форма TAAR1 является гликозилированным вариантом. Схожая ситуация ранее наблюдалась при исследовании везикулярного моноаминового транспортера (VMAT2), в котором было также обнаружено несколько иммунореактивных полос, где более “тяжелая” форма, как установили авторы, является гликозилированной, а более “легкая” – нативной формой белка VMAT2 [55]. С учетом того, что ранее в исследованиях *in vitro* на культуре клеток HEK-293 было показано, что гликозилирование N-конца рецептора TAAR1 приводит к его стабилизации в плазматической мембране [56], мы допускаем, что предполагаемый гликозилированный вариант (~ 39 кДА) является мембранным вариантом рецептора TAAR1, тогда как более легкая – цитозольной формой рецептора (~ 37 кДА). Исходя из этого, согласно данным иммуноблоттинга, мы определили соотношение мембранный и цитозольной формы в исследуемых структурах мозга (~ 39 кДА к 37 кДА). Преобладание мембранный

формы над цитозольной было установлено лишь во фронтальной коре как у высокоагрессивных, так и у ручных крыс, что может отражать вероятность гетеродимеризации TAAR1, в том числе с 5-HT-рецепторами. Стоит отметить, что в этой структуре детектировался только уровень белка TAAR1 без обнаружения мРНК *Taar1*, что говорит о пресинаптической локализации рецептора. Кроме того, во фронтальной коре у агрессивных крыс нами было выявлено увеличение уровня экспрессии *Htr7*, что согласуется с данными предыдущих лет [27]. В то же время у агрессивных крыс в данной области ранее было зафиксировано снижение плотности 5-HT1AR [11], что, возможно, является следствием их интернализации из-за образования гетеродимеров как с 5-HT7R, так и с TAAR1. Ранее в условиях как *in vitro*, так и *in vivo* установлено существование 5-HT1AR/5-HT7R гетеродимеров [14], а позже выдвинуто предположение об их роли в патогенезе депрессии [57]. При этом, хотя на сегодняшний день достоверно не установлено существование 5-HT1A/TAAR1 гетеродимеров, мы допускаем возможность их образования, поскольку ранее было доказано существование гетеродимерных комплексов с 5-HT1BR [58], который в значительной степени гомологичен с 5-HT1AR.

Таким образом, наиболее выраженные изменения центральной 5-HT-системы у крыс, селекционированных на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии, были установлены во фронтальной коре. У высокоагрессивных крыс выявлено увеличение в ответ на селекцию индекса метаболизма 5-HT вследствие роста уровня его основного метаболита, 5-ГИУК. Установлена обратная взаимосвязь между индексом метаболизма 5-HT, отражающей уровень его нейротрансмиссии, и экспрессией NOS1. Мы полагаем, что NOS1/NO-систему можно рассматривать в качестве потенциального биомаркера функциональной активности 5-HT-системы в условиях генетически детерминированной защитно-оборонительной агрессии.

Впервые выявленное увеличение экспрессии гена *Taar1* в среднем мозге и в гиппокампе у агрессивных крыс, однако, не сопровождается изменениям и в уровне белка основного рецептора следовых аминов, TAAR1. Исходя из полученных данных во фронтальной коре предполагается преобладание мембранный формы TAAR1 над внутриклеточной вне зависимости от агрессивности животного. В то же время для подтверждения возможного участия TAAR1 в качестве дополнительного звена в поддержании 5-HT нейронов при реализации генетической предрасположенности к защитно-оборонительной агрессии требуются дальнейшие исследования.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено на базе вивария конвенциональных животных Института цитологии и генетики СО РАН (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023).

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

В.С.Н. – концепция и руководство работой; Р.В.К., В.С.М., Д.В.Б., П.Д.П. – проведение экспериментов; В.С.Н., П.Д.П., В.С.М. – обсуждение результатов исследования; П.Д.П. – написание текста; В.С.Н., П.Д.П. – редактирование текста статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Российского научного фонда (грант № 22-15-00028). Содержание животных осуществлялось за счет средств бюджетного проекта FWNR-2022-0023. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по этике Института цитологии и генетики СО РАН, протокол № 99 от 9.11.2021 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Farrell G, Tilley N, Tseloni A* (2014) Why the crime drop? *Crime Justice* 43 (1): 421–490.
2. *Belyaev DK* (1979) The Wilhelmine E. Key 1978 invitational lecture. Destabilizing selection as a factor in domestication. *J Heredity* 70(5): 301–308.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a109263>
3. *Popova NK* (2006) From genes to aggressive behavior: The role of serotonergic system. *Bioessays* 28(5): 495–503.
<https://doi.org/10.1002/bies.20412>
4. *Olivier B* (2004) Serotonin and aggression. *Ann NY Acad Sci* 1036: 382–392.
<https://doi.org/10.1196/annals.1330.022>
5. *McCorvy JD, Roth BL* (2015) Structure and function of serotonin G protein-coupled receptors. *Pharmacol and Therap* 150: 129–142.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.01.009>
6. *Courtney NA, Ford CP* (2016) Mechanisms of 5-HT1A receptor-mediated transmission in dorsal raphe serotonin neurons. *J Physiol* 594(4): 953–965.
<https://doi.org/10.1113/JP271716>
7. *Hajós M, Hajós-Korcsok E, Sharp T* (1999) Role of the medial prefrontal cortex in 5-HT1A receptor-induced inhibition of 5-HT neuronal activity in the rat. *Br J Pharmacol* 126(8): 1741–1750.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702510>
8. *Albert PR, Lemonde S* (2004) 5-HT1A receptors, gene repression, and depression: Guilt by association. *Neuroscientist* 10(6): 575–593.
<https://doi.org/10.1177/1073858404267382>
9. *De Boer SF, Lesourd M, Mocaer E, Koolhaas JM* (1999) Selective antiaggressive effects of alnespirone in resident-intruder test are mediated via 5-hydroxytryptamine1A receptors: A comparative pharmacological study with 8-hydroxy-2-dipropylaminotetralin, ipsapirone, buspirone, eltoprazine, and WAY-100635. *J Pharmacol Exp Ther* 288(3): 1125–1133.
10. *Pruus K, Skrebuuhhova-Malmros T, Rudissaar R, Matto V, Allikmets L* (2000) 5-HT1A receptor agonists buspirone and gepirone attenuate apomorphine-induced aggressive behaviour in adult male Wistar rats. *J Physiol Pharmacol* 51: 833–846.
11. *Popova NK, Naumenko VS, Plyusnina IZ, Kulikov AV* (2005) Reduction in 5-HT1A receptor density, 5-HT1A mRNA expression, and functional correlates for 5-HT1A receptors in genetically defined aggressive rats. *J Neurosci Res* 80(2): 286–292.
<https://doi.org/10.1002/jnr.20456>
12. *Alcázar-Córcoles MA, Verdejo-García A, Bouso-Saiz JC, Bezos-Saldaña L* (2010) Neuropsicología de la agresión impulsiva [Neuropsychology of impulsive aggression]. *Rev Neurol* 50(5): 291–299.
<https://doi.org/10.33588/rn.5005.2009316>
13. *Ciranna L, Catania MV* (2014) 5-HT7 receptors as modulators of neuronal excitability, synaptic transmission and plasticity: physiological role and possible implications in autism spectrum disorders. *Front Cell Neurosci* 8: 250.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00250>
14. *Renner U, Zeug A, Woehler A, Niebert M, Dityatev A, Dityateva G, Gorinski N, Guseva D, Abdel-Galil D, Fröhlich M, Döring F, Wischmeyer E, Richter DW, Neher E, Ponimaskin EG* (2012) Heterodimerization of serotonin receptors 5-HT1A and 5-HT7 differentially regulates receptor signalling and trafficking. *J Cell Sci* 125: 2486–2499.
<https://doi.org/10.1242/jcs.101337>

15. Popova NK, Kulikov AV (2010) Targeting tryptophan hydroxylase 2 in affective disorder. *Expert Opin Ther Targets* 14(11): 1259–1271.
<https://doi.org/10.1517/14728222.2010.524208>
16. Popova NK, Naumenko VS, Cybko AS, Bazovkina DV (2010) Receptor-genes cross-talk: effect of chronic 5-HT(1A) agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin treatment on the expression of key genes in brain serotonin system and on behavior. *Neuroscience* 169(1): 229–235.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.04.044>
17. Kulikov AV, Popova NK (1996) Association between intermale aggression and genetically defined tryptophan hydroxylase activity in the brain. *Aggr Behav* 22: 111–117.
18. Kulikov AV, Osipova DV, Naumenko VS, Popova NK (2005) Association between Tph2 gene polymorphism, brain tryptophan hydroxylase activity and aggressiveness in mouse strains. *Genes Brain Behav* 4(8): 482–485.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00145.x>
19. Smith JC, Whitton PS (2000) Nitric oxide modulates N-methyl-D-aspartate-evoked serotonin release in the raphe nuclei and frontal cortex of the freely moving rat. *Neurosci Lett* 291(1): 5–8.
[https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(00\)01378-1](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(00)01378-1)
20. Chiavegatto S, Dawson VL, Mamounas LA, Koliatsos VE, Dawson TM, Nelson RJ (2001) Brain serotonin dysfunction accounts for aggression in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(3): 1277–1281.
<https://doi.org/10.1073/pnas.98.3.1277>
21. Chiavegatto S, Nelson RJ (2003) Interaction of nitric oxide and serotonin in aggressive behavior. *Horm Behav* 44(3): 233–241.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2003.02.002>
22. Gainetdinov RR, Hoener MC, Berry MD (2018) Trace Amines and Their Receptors. *Pharmacol Rev* 70(3): 549–620.
<https://doi.org/10.1124/pr.117.015305>
23. Berry MD (2004) Mammalian central nervous system trace amines. Pharmacologic amphetamines, physiologic neuromodulators. *J Neurochem* 90(2): 257–271.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02501.x>
24. Lindemann L, Meyer CA, Jeanneau K, Bradaia A, Ozmen L, Bluethmann H, Bettler B, Wettstein JG, Borroni E, Moreau JL, Hoener MC (2008) Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity. *J Pharmacol Exp Ther* 324(3): 948–956.
<https://doi.org/10.1124/jpet.107.132647>
25. Zhukov IS, Karpova IV, Krotova NA, Tissen IY, Demin KA, Shabanov PD, Budygin EA, Kalueff AV, Gainetdinov RR (2022) Enhanced Aggression, Reduced Self-Grooming Behavior and Altered 5-HT Regulation in the Frontal Cortex in Mice Lacking Trace Amine-Associated Receptor 1 (TAAR1). *Int J Mol Sci* 23(22): 14066.
<https://doi.org/10.3390/ijms232214066>
26. Naumenko EV, Popova NK, Nikulina EM, Dygalo NN, Shishkina GT, Borodin PM, Markel AL (1989) Behavior, adrenocortical activity, and brain monoamines in Norway rats selected for reduced aggressiveness towards man. *Pharmacol Biochem Behav* 33(1): 85–91.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(89\)90434-6](https://doi.org/10.1016/0091-3057(89)90434-6)
27. Ilchibayeva TV, Tsybko AS, Kondaurova EM, Kovetskaya AI, Kozhemyakina RV, Naumenko VS (2020) Expression Patterns of Serotonin Receptors 1A and 7 in the Brain of Rats with Genetically Determined Fear-Induced Aggressive Behavior or the Lack of Aggression. *Neurochem J* 14: 180–186.
<https://doi.org/10.1134/S1819712420020051>
28. Plyusnina I, Oskina I (1997) Behavioral and adrenocortical responses to open-field test in rats selected for reduced aggressiveness toward humans. *Physiol Behav* 61(3): 381–385.
[https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(96\)00445-3](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(96)00445-3)
29. Moskaliuk VS, Kozhemyakina RV, Bazovkina DV, Terenina E, Khomenko TM, Volcho KP, Salakhutdinov NF, Kulikov AV, Naumenko VS, Kulikova EA (2022) On an association between fear-induced aggression and striatal-enriched protein tyrosine phosphatase (STEP) in the brain of Norway rats. *Biomed Pharmacother* 147: 112667.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112667>
30. Kulikov AV, Naumenko VS, Voronova IP, Tikhonova MA, Popova NK (2005) Quantitative RT-PCR assay of 5-HT1A and 5-HT2A serotonin receptor mRNAs using genomic DNA as an external standard. *J Neurosci Methods* 141(1): 97–101.
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.06.005>
31. Naumenko VS, Kulikov AV (2006) Quantitative assay of 5-HT(1A) serotonin receptor gene expression in the brain. *Mol Biol (Mosk)* 40(1): 37–44.
<https://doi.org/10.1134/s0026893306010079>

32. Naumenko VS, Osipova DV, Kostina EV, Kulikov AV (2008) Utilization of a two-standard system in real-time PCR for quantification of gene expression in the brain. *J Neurosci Methods* 170: 197–203.
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.01.008>
33. Bazovkina D, Naumenko V, Bazhenova E, Kondaurova E (2021) Effect of Central Administration of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) on Behavior and Brain Monoamine Metabolism in New Recombinant Mouse Lines Differing by 5-HT1A Receptor Functionality. *Int J Mol Sci* 22(21): 11987.
<https://doi.org/10.3390/ijms222111987>
34. Komleva PD, Alhalabi G, Izquierov AE, Khotskin NV, Kulikov AV (2023) Effects of the Combination of the C1473G Mutation in the Tph2 Gene and Lethal Yellow Mutations in the Raly-Agouti Locus on Behavior, Brain 5-HT and Melanocortin Systems in Mice. *Biomolecules* 13(6): 963.
<https://doi.org/10.3390/biom13060963>
35. Van Donkelaar MMJ, Hoogman M, Shumskaya E, Buitelaar JK, Bralten J, Franke B (2020) Monoamine and neuroendocrine gene-sets associate with frustration-based aggression in a gender-specific manner. *Eur Neuropsychopharmacol* 30: 75–86.
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.11.016>
36. Popova NK, Tsibko AS, Naumenko VS (2022) The Implication of 5-HT Receptor Family Members in Aggression, Depression and Suicide: Similarity and Difference. *Int J Mol Sci* 23(15): 8814.
<https://doi.org/10.3390/ijms23158814>
37. Popova NK, Kulikov AV, Nikulina EM, Kozlachkova EY, Maslova GB (1991) Serotonin metabolism and serotonergic receptors in Norway rats selected for low aggressiveness to man. *Aggr Behav* 17: 207–213.
38. Ara J, Przedborski S, Naini AB, Jackson-Lewis V, Trifiletti RR, Horwitz J, Ischiropoulos H (1998) Inactivation of tyrosine hydroxylase by nitration following exposure to peroxynitrite and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(13): 7659–7663.
<https://doi.org/10.1073/pnas.95.13.7659>
39. Ramaekers VT, Sequeira JM, DiDuca M, Vrancken G, Thomas A, Philippe C, Peters M, Jadot A, Quadros EV (2019) Improving Outcome in Infantile Autism with Folate Receptor Autoimmunity and Nutritional Derangements: A Self-Controlled Trial. *Autism Res Treat* 2019: 7486431.
<https://doi.org/10.1155/2019/7486431>
40. Gulevich RG, Shikhevich SG, Konoshenko MY, Kozhemyakina RV, Herbeck YE, Prasolova LA, Oskina IN, Plyusnina IZ (2015) The influence of social environment in early life on the behavior, stress response, and reproductive system of adult male Norway rats selected for different attitudes to humans. *Physiol Behav* 144: 116–123.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.03.018>
41. Zhou QG, Zhu LJ, Chen C, Wu HY, Luo CX, Chang L, Zhu DY (2011) Hippocampal neuronal nitric oxide synthase mediates the stress-related depressive behaviors of glucocorticoids by downregulating glucocorticoid receptor. *J Neurosci* 31(21): 7579–7590.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0004-11.2011>
42. Zhou QG, Zhu XH, Nemes AD, Zhu DY (2018) Neuronal nitric oxide synthase and affective disorders. *IBRO Rep* 5: 116–132.
<https://doi.org/10.1016/j.ibror.2018.11.004>
43. Zhang J, Huang XY, Ye ML, Luo CX, Wu HY, Hu Y, Zhou QG, Wu DL, Zhu LJ, Zhu DY (2010) Neuronal nitric oxide synthase alteration accounts for the role of 5-HT1A receptor in modulating anxiety-related behaviors. *J Neurosci* 30(7): 2433–2441.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5880-09.2010>
44. Tateno A, Jorge RE, Robinson RG (2003) Clinical correlates of aggressive behavior after traumatic brain injury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 15(2): 155–160.
<https://doi.org/10.1176/jnp.15.2.155>
45. Takahashi A, Nagayasu K, Nishitani N, Kaneko S, Koide T (2014) Control of intermale aggression by medial prefrontal cortex activation in the mouse. *PloS One* 9(4): e94657.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094657>
46. Van Erp AM, Miczek KA (2000) Aggressive behavior, increased accumbal dopamine, and decreased cortical serotonin in rats. *J Neurosci* 20(24): 9320–9325.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-24-09320.2000>
47. Caramaschi D, de Boer SF, de Vries H, Koolhaas JM (2008) Development of violence in mice through repeated victory along with changes in prefrontal cortex neurochemistry. *Behav Brain Res* 189(2): 263–272.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.01.003>

48. Centenaro LA, Vieira K, Zimmermann N, Miczek KA, Lucion AB, de Almeida RM (2008) Social instigation and aggressive behavior in mice: Role of 5-HT1A and 5-HT1B receptors in the prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 201(2): 237–248.
<https://doi.org/10.1007/s00213-008-1269-6>
49. Carreño Gutierrez H, O'Leary A, Freudenberg F, Fedele G, Wilkinson R, Markham E, van Eeden F, Reif A., Norton WHJ (2020) Nitric oxide interacts with monoamine oxidase to modulate aggression and anxiety-like behaviour. *Eur Neuropsychopharmacol* 30: 30–43.
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.09.004>
50. Arige V, Agarwal A, Khan AA, Kalyani A, Natarajan B, Gupta V, Reddy SS, Barthwal MK, Mahapatra NR (2019) Regulation of Monoamine Oxidase B Gene Expression: Key Roles for Transcription Factors Sp1, Egr1 and CREB, and microRNAs miR-300 and miR-1224. *J Mol Biol* 431(6): 1127–1147.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.01.042>
51. Zhu XJ, Hua Y, Jiang J, Zhou QG, Luo CX, Han X, Lu YM, Zhu DY (2006) Neuronal nitric oxide synthase-derived nitric oxide inhibits neurogenesis in the adult dentate gyrus by down-regulating cyclic AMP response element binding protein phosphorylation. *Neuroscience* 141(2): 827–836.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.04.032>
52. Ilchibaeva TV, Tsybko AS, Kozhemyakina RV, Kondaurova EM, Popova NK, Naumenko VS (2018) Genetically defined fear-induced aggression: Focus on BDNF and its receptors. *Behav Brain Res* 343: 102–110.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.01.034>
53. Xie Z, Westmoreland SV, Bahn ME, Chen GL, Yang H, Vallender EJ, Yao WD, Madras BK, Miller GM (2007) Rhesus monkey trace amine-associated receptor 1 signaling: Enhancement by monoamine transporters and attenuation by the D2 autoreceptor in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 321(1): 116–127.
<https://doi.org/10.1124/jpet.106.116863>
54. Miller GM (2011) The emerging role of trace amine-associated receptor 1 in the functional regulation of monoamine transporters and dopaminergic activity. *J Neurochem* 116(2): 164–176.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07109.x>
55. Jassen AK, Brown JM, Panas HN, Miller GM, Xiao D, Madra BK (2005) Variants of the primate vesicular monoamine transporter-2. *Brain Res Mol Brain Res* 139(2): 251–257.
<https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2005.05.028>
56. Barak LS, Salahpour A, Zhang X, Masri B, Sotnikova TD, Ramsey AJ, Violin JD, Lefkowitz RJ, Caron MG, Gainetdinov RR (2008) Pharmacological characterization of membrane-expressed human trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) by a bioluminescence resonance energy transfer cAMP biosensor. *Mol Pharmacol* 74(3): 585–594.
<https://doi.org/10.1124/mol.108.048884>
57. Naumenko VS, Popova NK, Lacivita E, Leopoldo M, Ponimaskin EG (2014) Interplay between serotonin 5-HT1A and 5-HT7 receptors in depressive disorders. *CNS Neurosci Ther* 20(7): 582–590.
<https://doi.org/10.1111/cns.12247>
58. Bräunig J, Dinter J, Höfig CS, Paisdzior S, Szczepek M, Scheerer P, Rosowski M, Mittag J, Kleinau G, Biebermann H (2018) The Trace Amine-Associated Receptor 1 Agonist 3-Iodothyronamine Induces Biased Signaling at the Serotonin 1b Receptor. *Front Pharmacol* 9: 222.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00222>

Modulators of the Brain Serotonin System in Rats with Genetically Determined Aggression Towards Man or its Absence

P. D. Pravikova^{a,*}, V. S. Moskaliuk^a, D. V. Bazovkina^a, R. V. Kozhemyakina^a, and V. S. Naumenko^a

^aInstitute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
**E-mail:PollyPravi@yandex.ru*

The research of mechanisms regulating aggressive behavior is one of the main problems of neurogenetics. Tame and highly aggressive strains of rats (*Rattus norvegicus*) obtained through long-term selection are a useful model for studying the mechanisms of genetically determined defensive behavior. The neurotransmitter serotonin (5-HT) controls many forms of behavior, including aggression. The activity of the brain's 5-HT system is regulated not only by its own elements, such as 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors, but also by various modulators. Among their many, trace amines occupy a special place, the main receptor of which, TAAR1, is localized on 5-HT neurons pre- and postsynaptically. Among their diversity, trace amines occupy a special place, the main receptor of which, TAAR1, is localized on pre- and postsynaptic 5-HT neurons. NO is also a perspective modulator, the synthesis of which in the brain is activated predominantly by neuronal NO-synthase (NOS1). In the midbrain, hippocampus, hypothalamus and frontal cortex, NOS1 and TAAR1 expression levels was investigated in comparison with the level of 5-HT, its main metabolite (5-HIAA) and mRNA of 5-HT receptors (*Htr1a*, *Htr7*), as well as the expression and activity of TPH2 in tame and aggressive rats. In the midbrain and hypothalamus in the aggressive strain compared to tame rats was detected a decrease in the *Htr1a* mRNA level, while in the frontal cortex there was an increase in the expression level of the *Htr7* gene. However, no interstrain differences in the TAAR1 protein level were detected in the investigated brain structures. Moreover, in highly aggressive rats, an increase in the *Taar1* mRNA level was detected in the midbrain and hippocampus, while in the hypothalamus and frontal cortex it was not detected, regardless of the aggressiveness degree. The most significant changes in the 5-HT system of aggressive rats were found in the frontal cortex; an increase in the 5-HT metabolism index was revealed due to an increase in the 5-HIAA level. There was an inverse correlation between the 5-HT metabolism index and NOS1 expression. We hypothesized that the NOS1/NO system is an indicator of the 5-HT system functional activity under conditions of genetically determined aggression.

Keywords: genetically determined aggression, 5-HT system, TPH2, TAAR1, NOS1, rats