

# РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ИМЕНИ И. М. СЕЧЕНОВА



Том 110 № 12  
декабрь  
2024



НАУКА

— 1727 —



---

СОДЕРЖАНИЕ

---

Экспериментальные статьи

Реакции вертикальной позы в ответ на звуки приближающихся спереди и сзади шагов у людей разного перцептивно-когнитивного стиля	
<i>О. П. Тимофеева, И. Г. Андреева</i>	1877
Роль фосфолипазы C в модуляции электрической активности предсердных кардиомиоцитов развивающихся крыс при стимуляции $\alpha 1$ -адренорецепторов	
<i>Н. Мансур, А. Л. Зефилов, Н. И. Зиятдинова, Т. Л. Зефилов</i>	1891
Модуляторы серотониновой системы мозга крыс с генетически детерминированной агрессией по отношению к человеку или ее отсутствием	
<i>П. Д. Правикова, В. С. Москалюк, Д. В. Базовкина, Р. В. Кожмякина, В. С. Науменко</i>	1902

---

---

CONTENTS

---

Experimental articles

Postural Reactions to the Sounds of Approaching Footsteps From in Front and Behind in People with Different Perceptive-Cognitive Styles	
<i>O. P. Timofeeva, and I. G. Andreeva</i>	1877
The Role of Phospholipase C in Modulating the Electrical Activity of Atrial Cardiomyocytes in Growing Rats upon Stimulation of $\alpha 1$ -Adrenergic Receptors	
<i>N. Mansour, A. L. Zefirov, N. I. Ziyatdinova, and T. L. Zefirov</i>	1891
Modulators of the Brain Serotonin System in Rats with Genetically Determined Aggression Towards Man or its Absence	
<i>P. D. Pravikova, V. S. Moskaliuk, D. V. Bazovkina, R. V. Kozhemyakina, and V. S. Naumenko</i>	1902

---

---

---

---

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

---

---

**РЕАКЦИИ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ПОЗЫ В ОТВЕТ НА ЗВУКИ  
ПРИБЛИЖАЮЩИХСЯ СПЕРЕДИ И СЗАДИ ШАГОВ У ЛЮДЕЙ РАЗНОГО  
ПЕРЦЕПТИВНО-КОГНИТИВНОГО СТИЛЯ**

©2024 г. О. П. Тимофеева<sup>1</sup>, И. Г. Андреева<sup>1, \*</sup>

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,*

*Санкт-Петербург, Россия*

*\*E-mail: ig-andreeva@mail.ru*

Поступила в редакцию 15.08.2024 г.

После доработки 12.09.2024 г.

Принята к публикации 20.09.2024 г.

Перцептивно-когнитивный стиль полезависимость/полenezависимость определяет ведущую модальность при ориентации в пространстве и стратегию поддержания позы в отсутствие дистантной стимуляции. В работе изучали реакции вертикальной позы в ответ на слуховое восприятие конспецифического движения у полезависимых (ПЗ) и полenezависимых (ПН) испытуемых. Для двух групп испытуемых (12 ПЗ и 12 ПН) регистрировали стабилотрамму в стандартной позе при закрытых глазах. Звуки шагов были созданы на основе предзаписи в помещении с реверберацией. В условиях свободного поля применяли звуки шагов, приближающиеся сзади и спереди в течение 24 с. Контрольный сигнал представлял собой повторяющийся шаг на месте, подаваемый сзади. Анализировали динамику положения центра давления (ЦД) в течение 64 с по показателям смещение и длина траектории ЦД по сагиттальной оси, площадь доверительного эллипса, учитывающую изменение по двум осям. Обнаружена небольшая дестабилизация позы во время звуковой стимуляции в обеих группах испытуемых. Выявлены различия в группах: ПЗ испытуемые с началом звукового сигнала смещают ЦД от звука приближающихся сзади шагов (стратегия “беги”), тогда как ПН испытуемые в момент предъявления сигнала смещают центр давления к источнику звука (стратегия “бей”). Полученные результаты обосновывают возможность применения звуковой стимуляции в реабилитационных мероприятиях при лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата с учетом индивидуальных особенностей восприятия у пациентов.

*Ключевые слова:* регуляция позы, конспецифическое движение, ориентация в пространстве, межсенсорное взаимодействие, когнитивный стиль, полезависимость

**DOI:** 10.31857/S0869813924120019, **EDN:** VGENHC

## ВВЕДЕНИЕ

Поддержание вертикальной позы выполняется с участием полимодальной афферентации со сложной иерархической структурой. Экстероцептивные и интероцептивные влияния определяют устойчивость вертикальной позы и ее изменения [1–4]. Реакция вертикальной позы в ответ на дистантную информацию можно рассматривать как

подготовку к последующему движению, которая выражается во временной дестабилизации позы.

Ранее нами было показано, что ожидание внешнего звукового стимула приводит к преднастройке вертикальной позы [5]. По данным стабилотрии, центр давления (ЦД) смещается назад, изменяются основные показатели колебаний ЦД – длина его траектории и площадь доверительного эллипса, которая характеризует рабочую площадь опоры человека [6, 7]. Во время звуковой стимуляции изменения становятся более выраженными, нарастая во времени постепенно. Их величина зависит как от содержания стимуляции (эмоциональная составляющая, ритм и направление движения звукового стимула), так и от продолжительности звучания сигнала [8–12].

Изучение вертикальной позы под действием звуков разного смыслового содержания и различной локализации, в частности стационарной или постоянно меняющейся, выявило противоположные эффекты на вертикальную позу. В одних работах [13, 14] параметры позы свидетельствовали о ее дестабилизации, тогда как в других [15, 16] происходило “заякорение” – стабилизация увеличивалась.

Помимо параметров звуковой стимуляции на реакции вертикальной позы влияют индивидуальные особенности человека. Ориентация в пространстве – это один из основных процессов, который отражается в реакциях позы. Мультисенсорная интеграция при ориентации определяется на основе вклада основных модальностей – зрительной и вестибулярной [17, 18]. Известно, что сенсорно-перцептивный стиль (полезависимость), присущий конкретному индивиду, определяет преобладающую из них [19, 20]. Полезависимые индивиды опираются на дистантную зрительную модальность, тогда как полenezависимые – на вестибулярную. Ведущая модальность сказывается и на характеристиках поддержания позы [21, 22].

Основным источником дистантной информации в случае отсутствия зрительной информации становится слух. При разделении испытуемых на группы с разным перцептивно-когнитивным стилем были обнаружены различия в стабилотрических показателях поддержания позы во время звуковой стимуляции движущимися звуковыми образами [23, 24].

Следует отметить, что звуковой образ содержит лишь такие параметры движения, как скорость, направление, траектория перемещения, и не конкретизирует информацию о движущемся объекте, тогда как конспектифический звуковой сигнал предполагает движение субъекта своего вида. Звуки приближающихся шагов означают контакт с другим человеком. В случае применения такой звуковой стимуляции в группе испытуемых нами были обнаружены поструральные реакции с высокой вариативностью показателей [25]. Целью настоящей работы было доказать, что обнаруженная нами ранее разница в стратегии поддержания позы в ответ на звуковую информацию о движении [24] у людей с разным перцептивно-когнитивным стилем имеет универсальный характер. Мы предположили, что ввиду высокой биологической значимости конспектифического сигнала различия в поструральных реакциях будут не менее значительными, чем в случае движущегося звукового образа. Для решения этого вопроса мы дополнили методику тестом Готтшальда, что позволило сформировать группы с разным когнитивно-перцептивным стилем и проанализировали параметры ЦД в группах полenezависимых и полenezависимых испытуемых при звуковой стимуляции конспектифическими сигналами.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено с участием 24 испытуемых: 12 полenezависимых (ПЗ) – 6 женщин, 6 мужчин (средний возраст  $24.1 \pm 3.0$  года), и 12 полenezависимых (ПН) – 7 женщин и 5 мужчин (средний возраст  $25.7 \pm 1.9$  лет). Все декларировали отсутствие у них нарушений вестибулярной системы и опорно-двигательного аппарата. У испы-

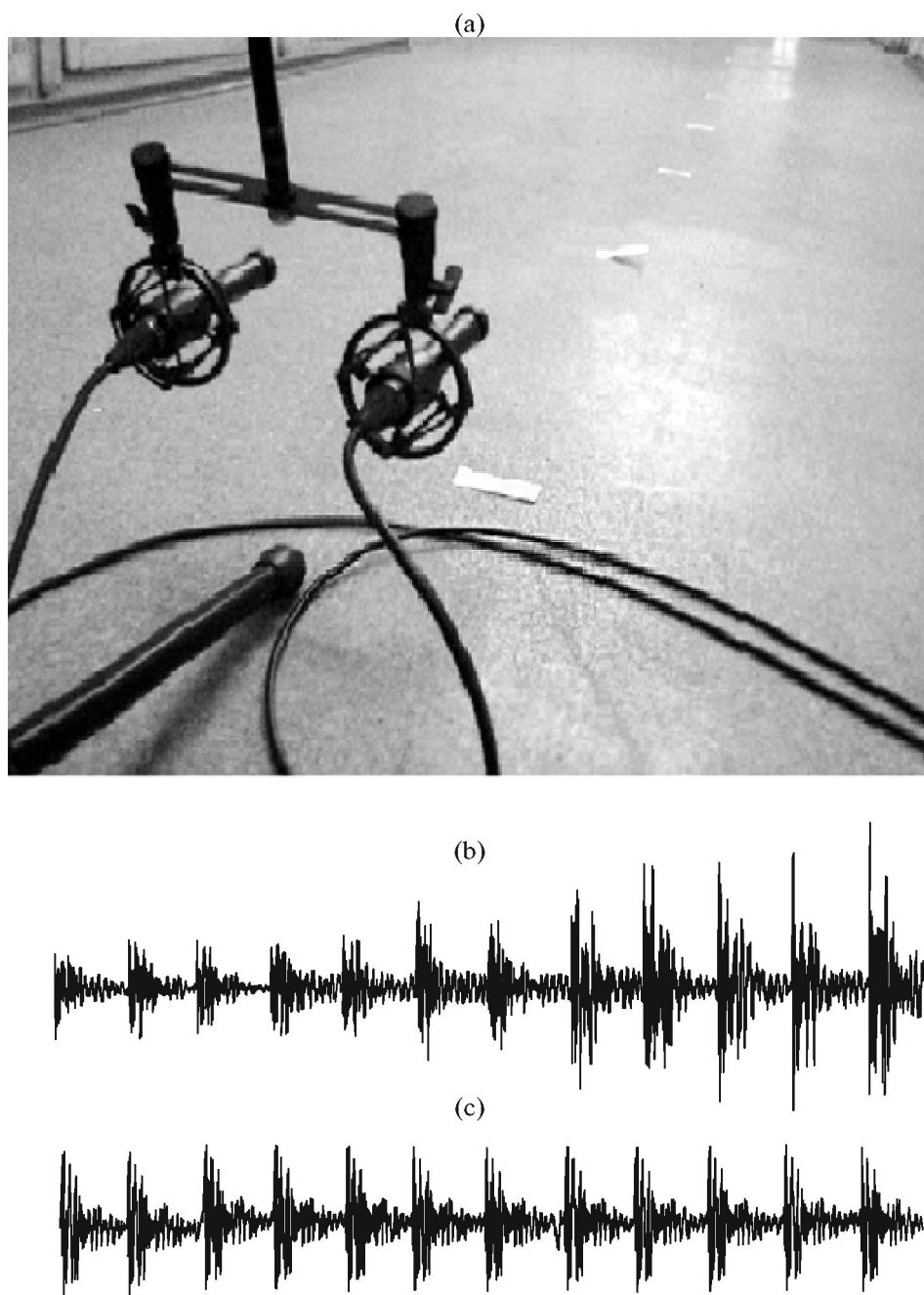
туемых проводили оценку состояния слуха методом стандартной тональной воздушной аудиометрии с помощью клинического аудиометра АА-02 (“Биомедилен”, Россия). Тест на обнаружение паузы [26] был использован для определения состояния центрального отдела слухового анализатора. Оба аудиометрических теста были успешно пройдены всеми испытуемыми. Когнитивный стиль испытуемых (полезависимость–полнезависимость) определяли с помощью сжатой российской версии теста Готтшальдта (Embedded Figures Test) [27].

Звуковые сигналы, использованные в работе, были предварительно созданы на основе предзаписи в длинном коридоре с реверберацией (рис. 1а). Для записи звука использовали ноутбук с внешним USB-аудиоинтерфейсом AKAI EIE. Стереозапись шагов выполняли с применением калиброванной пары конденсаторных микрофонов Oktava МК 012. Как показано на рис. 1а, их располагали на расстоянии 15 см от пола в направлении движущегося человека и параллельно друг другу с расстоянием, равным среднему межушному – 15.5 см. Уровень реверберации составил 35 дБ в течение 400 мс. Эхо-сигналы щелчков были зарегистрированы через 15 и 38 мс. Осциллограмма звуков приближающихся шагов и контрольного сигнала – звукового фрагмента повторяющегося шага на месте, представлены на рис. 1б, с. Во время записи сигналов в головные телефоны подавали звуки метронома, которые задавали ритм шагов. Он составлял 133 шаг./мин, что соответствовало скорости около 1.6 м/с. Звуковая стимуляция включала три одинаковых 6.5-секундных фрагмента записи звуков шагов с интервалами 0.5 с.

Во время исследования испытуемый находился в звукоизолированной анэхоидной камере объемом 62.5 м<sup>3</sup> (уровень ослабления внешнего шума в диапазоне частот от 0.5 до 16 кГц составлял не менее 40 дБ). Испытуемый стоял в центре камеры на стабилметрической платформе Стабилан-01-2 (ОКБ “Ритм”, Таганрог, Россия) в позе: “пятки вместе, носки врозь”, руки опущены вдоль тела, глаза закрыты. Регистрация положения ЦД тела осуществлялась программой Stabmed 2.05, частота дискретизации сигнала ЦД – 50 Гц. Постуральные показатели регистрировали в течение 96 с: 40 с тишины перед стимуляцией, 20.5 с звуковой стимуляции и 35.5 с тишины после стимуляции одним из трех видов стимулов: звуки шагов, приближающихся спереди и сзади, а также контрольный сигнал, не содержащий информации о движении. Последний представлял собой многократное повторение звуковой записи одного шага, подаваемой из громкоговорителя, расположенного позади испытуемого. Звуковую стимуляцию производили с одного из двух громкоговорителей, расположенных на высоте 1.6 м и расстоянии 2.0 м спереди и сзади от стоящего на платформе испытуемого. Генерацию звука осуществляли с ПК через USB-аудиоинтерфейс Creative E-MU 0202. Уровень сигнала на громкоговорителе регулировали с помощью усилителя мощности NevaAudio SA-3004. С помощью микрофона 41-45, предусилителя 26-39 и усилителя 26-06 (Brüel and Kjaer) проводили измерения уровня сигнала в месте головы испытуемого. Максимальный уровень всех звуковых раздражителей в месте прослушивания составлял 52 дБ УЗД.

Для каждого испытуемого выполняли по 10 циклов регистрации при каждом типе стимуляции. После двух записей стабилграммы испытуемый мог сойти с платформы для 2–10-минутного отдыха. Общая продолжительность исследования не превышала двух часов.

Полученные стабилграммы в последующем были разделены на периоды длительностью 8 с. Анализ стабилметрических показателей был выполнен для 8 периодов: 1 период, непосредственно предшествующий стимуляции; 3 периода во время стимуляции (включая 3.5 с после ее окончания с учетом латентного периода постурального ответа [7]; 4 периода после окончания стимуляции. Вертикальную позу оценивали по следующим показателям ЦД тела: длине траектории ЦД тела (ДТ) и смещению вдоль сагиттальной оси, характеризующего среднее положение ЦД по сагиттальной оси за



**Рис. 1.** Запись звуков шагов человека. (а) – положение микрофонной пары при записи конспецифического биологически значимого звукового сигнала–шагов человека с разметкой шага. (б) – осциллограмма одноканальной записи приближающихся в течение 6.5 с шагов. (с) – осциллограмма контрольного сигнала – звуки повторяющегося на месте шага той же продолжительности.

интервал времени. Помимо них определяли площади доверительного эллипса (ПЭ). Последняя характеризует основную часть площади опоры, в которой перемещается ЦД тела при стоянии без случайных выбросов.

Статистические расчеты проводили в пакете программ Statistica v.10. Достоверность различий в показателях ЦД для временных периодов одной регистрации в группах испытуемых оценивали с применением парного непараметрического метода Вилкоксона. Достоверность различий показателей при разных видах стимуляции, т.е. в разных регистрациях, кроме того, между двумя группами испытуемых, определяли с применением непараметрического критерия Манна–Уитни для независимых выборок. Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Динамика поструральных показателей в группах полезависимых и полнезависимых испытуемых*

Показатели положения ЦД тела за период, непосредственно предшествовавший звуковой стимуляции, могли отличаться у разных испытуемых в несколько раз. Индивидуальные стабилметрические данные, усредненные по десяти регистрациям ДТ и ПЭ, на который преимущественно проецируется ЦД за этот период, представлены на рис. 2. Вариабельность данных у одного испытуемого в период, предшествующий стимуляции разных видов, не превышала 2.5 раза, тогда как межиндивидуальная вариабельность для ДТ составляла от 35 до 145 мм, а для ПЭ от 27 до 442 мм<sup>2</sup>. Поэтому все величины ( $I$ ) этих двух показателей в отдельные периоды времени ( $n$ ), полученные в процессе отдельной регистрации, были нормированы на их значение в первом периоде, предшествовавшем звуковой стимуляции ( $I_n/I_1 \times 100, \%$ ).

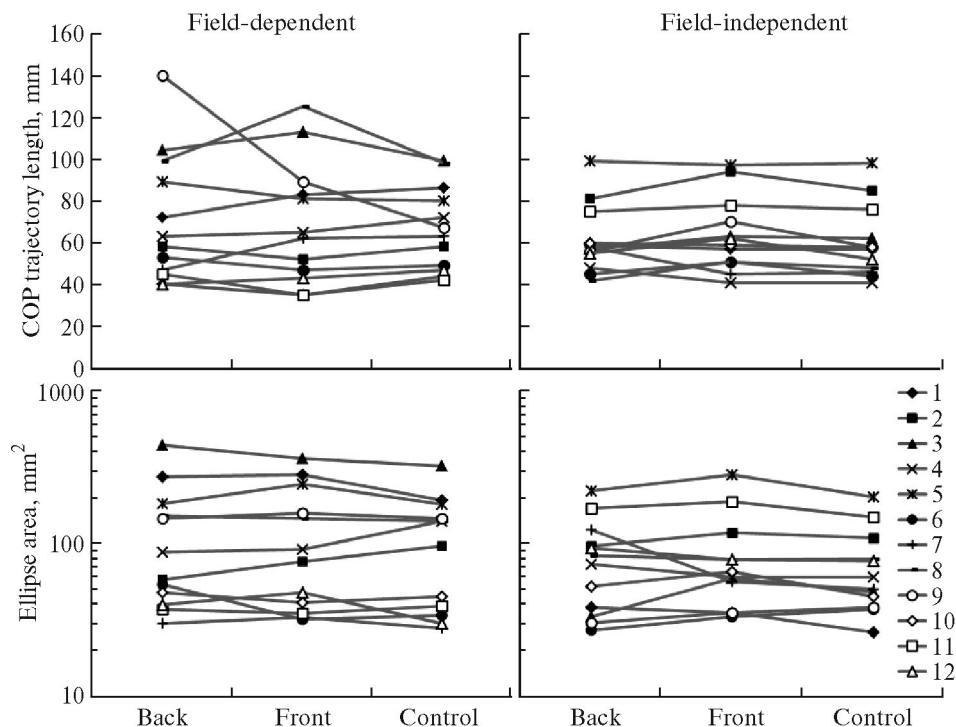
Третий показатель положения ЦД – смещение по сагиттальной оси, нормировали с учетом среднего положения ЦД за период, предшествующий стимуляции ( $I_n - I_1$ , мм). Такое нормирование позволяло определить направление изменения положения ЦД по отношению к направлению шагов, которые приближались спереди или сзади от испытуемого.

Динамика нормированных значений ДТ, усредненных по двум группам испытуемых, представлена на рис. 3, слева. С началом звуковой стимуляции ДТ, как правило, увеличивалась, причем ее наибольшее увеличение отмечалось к концу звуковой стимуляции, т.е. наблюдалась небольшая дестабилизация позы. В случае контрольного сигнала увеличение достигало по средним данным 11% в обеих группах испытуемых. Увеличение было достоверно между 1-м и 3–5-м периодами ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$  и  $p < 0.01$  соответственно) для ПЗ испытуемых, а для ПН испытуемых – между 1-м и 3–4-м периодами ( $p < 0.01$  и  $p < 0.05$  соответственно). Кроме того, получили различия между 1-м и 6–7-м периодами ( $p < 0.01$  и  $p < 0.05$  соответственно). После контрольного сигнала уменьшение ДТ было достоверным только в группе ПЗ испытуемых при сравнении 5-го и 8-го периодов ( $p < 0.05$ ).

При прослушивании звуков шагов, приближающихся спереди, максимальное увеличение ДТ по сравнению с предшествующим периодом составило 11% в группе ПЗ испытуемых и 7% в группе ПН. Достоверные изменения этого показателя были выявлены только у ПЗ испытуемых при сравнении данных между 1-м и 2–6-м, а также 8-м периодами ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$  и  $p < 0.001$  соответственно), для 7-го – в виде тенденции ( $p = 0.06$ ). Таким образом, после периодов звуковой стимуляции данный показатель в группе ПЗ испытуемых не вернулся к исходному уровню.

Во время прослушивания испытуемым звуков приближающихся сзади шагов ДТ увеличивалась в среднем до 15% для группы ПЗ испытуемых и до 8% для ПН. Достоверные различия получили в группе ПЗ испытуемых между 1-м и 3–4-м периодами ( $p < 0.001$





**Рис. 2.** Индивидуальные показатели положения центра давления тела – длина траектории по сагиттальной оси (вверху) и площадь доверительного эллипса (внизу) в группах полезависимых ( $n = 12$ ) и полнезависимых ( $n = 12$ ) испытуемых в восьмисекундном периоде, предшествующем звуковой стимуляции.

По оси абсцисс – регистрация позы при различной звуковой стимуляции: звуки шагов, приближающихся сзади; звуки шагов, приближающихся спереди; звуки повторяющегося шага сзади (контроль). 1–12 – номер испытуемого.

и  $p < 0.0001$  соответственно), а в группе ПН – между 1-м и 4-м ( $p < 0.05$ ). Отметим, что в 3-м периоде ДТ в ответ на звук приближающихся сзади шагов была достоверно больше в группе ПЗ испытуемых, чем в группе ПН ( $p < 0.05$ , критерий Манна–Уитни для независимых выборок). Прекращение звуковой стимуляции приводило к снижению данного показателя в обеих группах. Для группы ПЗ испытуемых достоверное уменьшение между 3-м и 6–8-м периодами ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$  и  $p < 0.05$  соответственно), а также между 4-м и 5–8-м периодами ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$  и  $p < 0.01$  соответственно). В группе ПН испытуемых различие выявлено между 4-м и 6-м периодами ( $p < 0.05$ ).

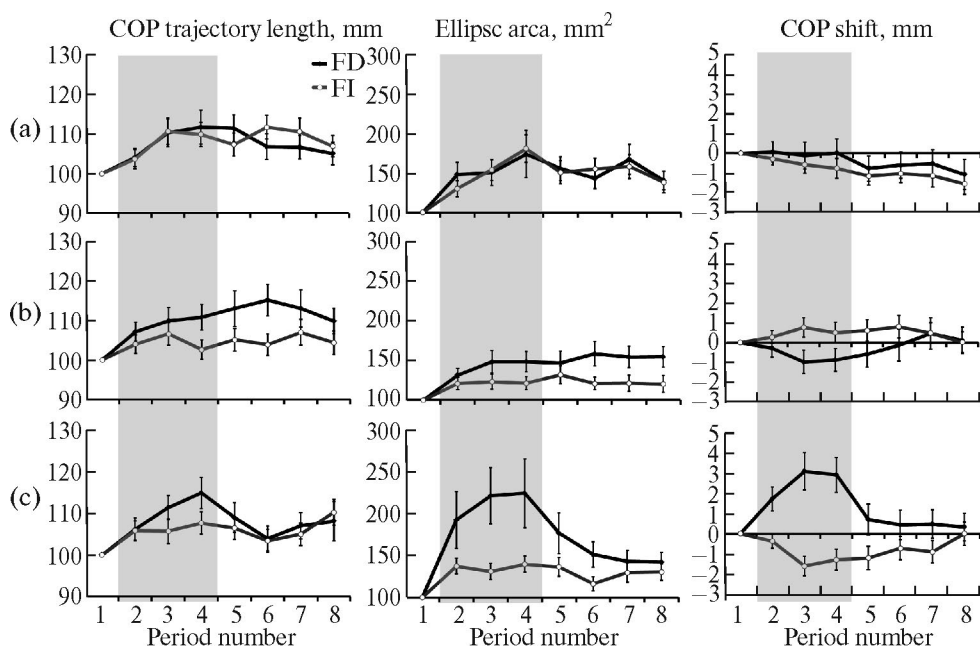
Сходная динамика наблюдалась и для интегрального показателя вертикальной позы – ПЭ (рис. 3, центр). Увеличение ПЭ получили и в случае шагов, и для контрольного сигнала, не содержащего признаков движения, в группах ПН и ПЗ. При прослушивании контрольного сигнала происходил рост ПЭ: на 73% по средним данным у ПЗ испытуемых и на 80% – у ПН. Достоверные различия выявлены между 1-м и 3–4-м периодами (ПЗ:  $p < 0.01$  и  $p < 0.001$  соответственно; ПН:  $p < 0.001$  в обоих случаях). Во время стимуляции звуками шагов, приближающихся спереди, наблюдали рост показателя в группе ПЗ испытуемых на 50%. Достоверное увеличение ПЭ выявлено между 1-м и 2-м периодами, 1-м и 4-м периодами ( $p < 0.05$  и  $p < 0.01$  соответственно), а также между 1-м и 6–8-м периодами ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  и  $p < 0.05$  соответственно). В группе ПН испытуемых выявлено увеличение ПЭ на 23%, которое оказалось недостоверным.

При звуках шагов сзади увеличение ПЭ было в среднем до 224% у ПЗ испытуемых, у ПН – до 140%. В последнем случае изменения оказались максимальными. Достоверные различия для ПЗ получили между 1-м и 3–4-м периодами ( $p < 0.05$  в обоих случаях). Для группы ПН испытуемых – между 1-м и 2-м, 4-м периодами ( $p < 0.01$  в обоих случаях). Различий между группами по ПЭ при прослушивании звуков приближающихся спереди и сзади шагов не было выявлено.

После окончания звуковой стимуляции ПЭ в одних случаях уменьшалась, а в других – мало изменялась на протяжении 32 с анализа этого показателя. В случае контрольного сигнала и звуков шагов спереди ПЭ сохранялась увеличенной по сравнению с ее величиной до начала звуковой стимуляции в обеих группах. Изменения были достоверными ( $p < 0.05$ ), кроме трех последних периодов анализа в случае стимуляции звуками шагов спереди в группе ПН испытуемых.

По окончании звука приближающихся сзади шагов в группе ПЗ испытуемых происходило достоверное уменьшение ПЭ от 4-го периода к 6-м и 7-м периодам ( $p < 0.05$  в обоих случаях). В группе ПН также наблюдали снижение от четвертого периода до шестого ( $p < 0.01$ ).

Показатель смещения оценивали относительно периода, предшествовавшего звуковой стимуляции. При прослушивании контрольного сигнала достоверные изменения показателя были выявлены только для группы ПН испытуемых между 1-м и 3–4-м



**Рис. 3.** Динамика стабилеографических показателей в ответ на конспецифическое движение – звуки шагов человека в группах полезависимых (FD) и полenezависимых (FI) испытуемых.

Стабилеографические показатели: слева – длина траектории вдоль сагиттальной оси; по центру – площадь эллипса; справа – смещение вдоль сагиттальной оси.

(a) – контрольный сигнал, (b) – звуки шагов, приближающихся спереди, (c) – звуки шагов, приближающихся сзади.

По абсциссе – восьмисекундные периоды наблюдения: 1 – до стимуляции, 2–4 – во время нее (периоды выделены), 5–8 – после окончания звуковой стимуляции.

Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

периодами в виде тенденции ( $p = 0.06$  и  $p = 0.07$  соответственно) (см. рис. 3, справа). После прослушивания сигнала ПН испытуемые продолжали смещаться назад. Достоверные различия получили между 1-м и 5–8-м периодами ( $p < 0.01$  во всех случаях).

В ответ на звуки приближающихся шагов испытуемые с разным перцептивно-когнитивным стилем смещались в противоположных направлениях. ПЗ испытуемые отклонялись назад в ответ на шаги спереди, ПН испытуемые, наоборот, смещали ЦД вперед. Средние по группе изменения положения ЦД при сравнении последовательных периодов были недостоверными. Различия показателя смещения были выявлены только в виде тенденции между 1-м и 4-м периодами ( $p = 0.08$ ) в одной из групп – у ПЗ испытуемых. При приближающихся шагах сзади ПЗ и ПН испытуемые также смещались в противоположных направлениях. ПЗ испытуемые смещались в среднем по группе на 3 мм вперед от положения, которое они занимали перед началом стимуляции. Достоверные изменения выявлены между 1-м и 3–4-м периодами ( $p < 0.05$ ), а также 1-м и 2-м периодами в виде тенденции ( $p = 0.06$ ). Испытуемые группы ПН отклонялись назад до 1.6 мм, достоверные изменения были между 1-м и 3–5-м периодами ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$  и  $p < 0.05$  соответственно).

По окончании звуков шагов сзади испытуемые обеих групп смещались к положению, которое они занимали перед воздействием. ПЗ испытуемые смещались назад с разницей между 4-м и 5–8-м периодами ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$  соответственно). ПН испытуемые смещались вперед, достоверная разница была выявлена только между 3-м и 8-м периодами ( $p < 0.05$ ). После прослушивания звуков спереди достоверных изменений смещения ЦД не было показано. В случае контрольного сигнала различия были выявлены в группе ПЗ испытуемых только между 8-м и 2-м периодами ( $p < 0.05$ ) и в группе ПН испытуемых – между 8-м и 2-м, 6-м периодами ( $p < 0.01$  и  $p < 0.05$  соответственно).

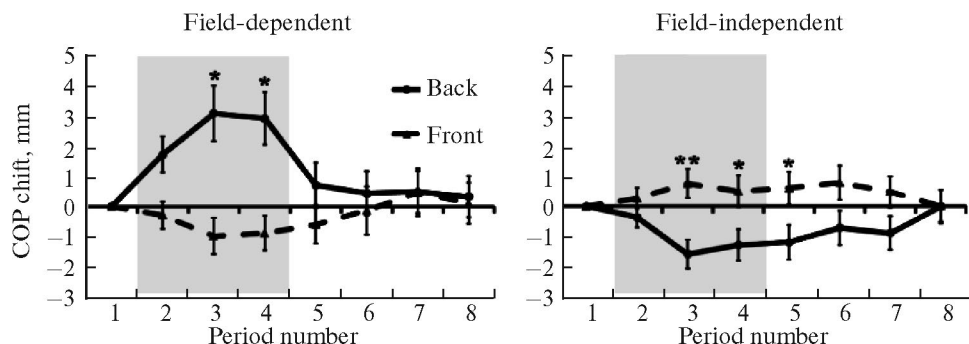
#### *Сравнение поструральных реакций двух групп испытуемых*

Сопоставление показателей, характеризующих положение ЦД тела в двух группах испытуемых, показало, что при звуках приближающихся шагов возникает небольшая дестабилизация позы, которая сопровождается смещением положения ЦД тела в направлении, совпадающем с направлением звуковой стимуляции в группе ПЗ испытуемых, тогда как в группе ПН испытуемых смещение положения ЦД происходит в направлении, противоположном приближающимся шагам.

Сравнение ДТ между группами испытуемых разных перцептивно-когнитивных стилей в последовательные периоды показало достоверные различия только во время прослушивания звуков шагов, приближающихся сзади (3-й период,  $p < 0.05$ , критерий Манна–Уитни для независимых выборок). По показателю смещение обнаружено различие между группами в случае звуков шагов, приближающихся сзади. Достоверное различие выявили как во время стимуляции, так и после нее: во 2–5-м и 7-м периодах ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$  и  $p < 0.05$  соответственно) (см. рис. 3). По показателю ПЭ достоверных различий между двумя группами не обнаружено ни в одном из периодов при всех видах стимуляции.

Изменение положения ЦД в последовательные временные периоды в двух группах испытуемых было противоположно направлено при звуках шагов, приближающихся спереди и сзади (рис. 4). Положение ЦД при прослушивании шагов спереди и сзади достоверно различалось в 3-м и 4-м периодах ( $p < 0.05$ ) в обеих группах. Во 2-м периоде в группе ПЗ испытуемых отмечена тенденция ( $p = 0.09$ ). По окончании стимуляции в группе ПН испытуемых в положении ЦД различалось в 5-м периоде ( $p < 0.05$ ) и в виде тенденции в 6-м и 7-м периодах ( $p = 0.08$  и  $p = 0.06$  соответственно).

Таким образом, помимо ожидаемой дестабилизации позы во время звуковой стимуляции, было обнаружено различие в двух группах ПЗ и ПН испытуемых по параметру смещение, которое указывало на разные поструральные ответы при приближении конспецифического сигнала.



**Рис. 4.** Смещения ЦД тела по сагиттальной оси при прослушивании звуков шагов, приближающихся спереди и сзади, в группах полезависимых (слева) и полнезависимых (справа) испытуемых.

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , Wilcoxon Matched Pairs Test.  $n = 120$ . Остальные обозначения как на рис. 3.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Индивидуальные показатели положения ЦД во временном 8-секундном интервале перед началом звуковой стимуляции выявили высокую вариабельность в группах ПЗ и ПН испытуемых (см. рис. 2). Поскольку поддержание вертикальной позы является сложной двигательной задачей, то вариабельность показателей позы определяется влиянием значительного числа внешних и внутренних факторов [1–4, 28]. Это послужило основанием для нормировки показателей в последующие временные периоды со звуковой стимуляцией и после нее для корректного описания реакций позы в ответ на звуковую стимуляцию. Такое нормирование позволяет исключить большинство из этих факторов и проследить динамику постральных показателей при звуковом воздействии. Заметим, что в выполненных нами ранее работах показатели ЦД тела при постральных стойках в тишине с закрытыми глазами также проявляли значительную индивидуальную вариабельность [22, 25].

Звуковая стимуляция, которую мы применяли в данной работе в качестве контрольной, не содержала признаков движения (звук одного шага многократно повторялся). Она приводила к монотонному изменению положения ЦД – смещению назад в течение всего периода анализа, что было характерно для периодов ожидания сигнала в предыдущих работах и наблюдалось для обеих групп – ПН и ПЗ испытуемых [5], и при стоянии в тишине с открытыми или закрытыми глазами [29, 22]. Отметим, что контрольная звуковая стимуляция сзади приводила к небольшой дестабилизации позы.

Приближающиеся шаги независимо от направления прихода звука, т.е. при их подаче с расположенного спереди или сзади излучателя, приводили к усилению качаний в сагиттальной плоскости по сравнению с периодом до стимуляции в обеих обследованных группах – ПН и ПЗ испытуемых. Во время звуковой стимуляции происходило увеличение длины траектории ЦД и площади эллипса. Причем даже по средним в группе испытуемых данным можно было наблюдать значительную латентность ответа. Постуральные показатели нарастали с началом стимуляции и снижались после ее окончания настолько медленно, что даже анализ временных интервалов по восемь секунд позволял выявить задержку в ответ на изменения звукового воздействия.

В настоящем исследовании более выраженное увеличение длины траектории в периоды прослушивания звуков шагов наблюдали в группе ПЗ испытуемых, хотя ранее изменения были больше в группе ПН [5, 25]. Поэтому в данной работе не подтвердилось наше предположение о том, что различия в постральных реакциях связаны

с большей пространственной избирательностью зрительного и слухового внимания у ПН испытуемых, чем у испытуемых ПЗ. Причиной противоречия в данных мог служить случайный подбор испытуемых с разными морфометрическими данными, в том числе соотношением рост/вес [1].

Тем важнее нам представляется результат, полученный для смещения ЦД в двух группах с разным когнитивным стилем и совпадающий с выявленным ранее различием в стратегии реагирования на движущиеся звуковые образы [23, 24]. Во всех этих работах испытуемый пассивно прослушивал звуковые сигналы в свободной позе, поэтому полученные данные можно интерпретировать как непроизвольное реагирование на них. В настоящей работе в группах ПН и ПЗ испытуемых были получены достоверные различия по смещению ЦД в ответ на звуки шагов, приближающихся спереди и сзади. Причем в группе ПЗ испытуемых при шагах сзади получили смещение вперед, а при шагах спереди – назад, т.е. наблюдали непроизвольное избегание источника, тогда как ПН испытуемые смещали ЦД навстречу приближающимся шагам в обоих случаях, т.е. проявляли готовность к контакту с источником звука. Учитывая видоспецифический характер сигнала и непроизвольность реакции, полученный результат можно интерпретировать как непроизвольную подготовку к реализации стратегии “бей” или “беги”. Ранее мы наблюдали аналогичные реакции при регистрации позы в ответ на приближающийся звуковой образ при расположении источника спереди, но не на удаляющийся [24]. Отметим, что в настоящей работе наиболее выраженные поструральные реакции в обеих группах возникали в ответ на звуки шагов, приближающихся сзади. При стимуляции спереди получили смещение по сравнению с предшествующим ей периодом на уровне тенденции и только в группе ПЗ испытуемых, тогда как при звучании непрерывного приближающегося звукового образа смещение было достоверным [24].

На величину и продолжительность пострурального ответа существенное влияние оказывает длительность стимуляции [12]. В настоящей работе общая продолжительность звуковой стимуляции была более чем в 2 раза короче, чем в исследовании с приближающимся звуковым образом, что повлияло на величину смещения в ответ на звук. Помимо продолжительности звучания, есть существенные различия в самой структуре стимулов. Шаги представляют собой дискретные звуки с редким ритмом (см. рис. 1). Другой их особенностью является неоднородность, приводящая к немоновотонному изменению громкости последовательных шагов. Известно, что прерывистое движение усиливает неопределенность и создает сложность для слушателя при оценке направления движения в течение первых секунд [30]. Эти особенности звуков шагов как акустического сигнала могут отличаться по своему воздействию на вертикальную позу по сравнению с непрерывными движущимися звуковыми образами.

С учетом описанных выше особенностей звуков шагов можно считать, что при применении звуковых сигналов конспецифического движения мы подтвердили полученный ранее результат, который можно интерпретировать как реализацию на неосознанном уровне двух разных стратегий поведения – “бей” или “беги” – группами ПН и ПЗ испытуемых.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Конспецифическая звуковая информация о приближении объекта вызывала в ответ небольшую дестабилизацию позы в сагиттальной плоскости, причем поструральные реакции различались у ПН и ПЗ испытуемых. У первых – смещение ЦД возникало в том же направлении, что и у движущегося объекта, и свидетельствовало об избегании контакта по типу “беги”, тогда как у вторых – навстречу объекту, по типу “бей”. Из социологических исследований известно, что первая группа больше склонна к конформизму, для нее характерна меньшая агрессивность [31]. Мы полагаем, что полученные

нами данные раскрывают физиологическую основу такого поведения. Наиболее выраженные изменения позы возникали при приближении сзади, что демонстрирует роль сторожевой функции слуха.

Конспецифическая информация звуков шагов имеет важную особенность – редкий ритм, в результате формируется прерывистое движение. Поэтому звуки шагов оказались менее информативны при оценке направления, чем непрерывное движение. Реакции в ответ на звуки шагов были не так четко выражены, чем на непрерывные движущиеся звуковые образы. Возможно, записи речи приближающегося человека могут быть более эффективны при формировании постуральных ответов.

Полученные данные о характере дестабилизации позы в ответ на звуковую стимуляцию и направлении смещения положения центра давления могут найти применение в реабилитационных методиках для пациентов с поражением опорно-двигательного аппарата. Существующие методы дестабилизации позы с применением зрительной информации ограничены полями зрения, тогда как сторожевая функция слуха оказывается более эффективной для постуральных тренировок устойчивости, предполагая любое направление смещения центра давления тела. Выявленные в работе особенности реагирования на конспецифический сигнал и индивидуальные различия в реакциях позы имеют значение для формирования индивидуально ориентированных методик реабилитации пациентов с постуральными нарушениями, способов уменьшения рисков падения и потери равновесия.

#### БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы статьи выражают благодарность А.П. Гвоздевой за выполнение стереозаписей звуков шагов и оценку акустических характеристик помещения, в котором проводилась аудиозапись.

#### ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (А.И.Г., Т.О.П.), сбор данных (Т.О.П.), обработка данных (Т.О.П.), написание и редактирование манускрипта (А.И.Г., Т.О.П.).

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Настоящая работа финансировалась за счет средств бюджета государственного задания № 075-00264-24-00 на базе Центра коллективного пользования Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (ЦКП ИЭФБ РАН, <https://www.iephb.ru/czentr-kollektivnogo-polzovaniya>). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Они также были одобрены Комитетом по этике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, протокол № 01-03 от 20.03.2024 г.

Каждый участник исследования дал добровольное письменное информированное согласие после получения разъяснений о потенциальных рисках и преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Alonso AC, Mochizuki L, Silva Luna NM, Ayama S, Canonica AC, Greve JM* (2015) Relation between the sensory and anthropometric variables in the quiet standing postural control: Is the inverted pendulum important for the static balance control? *BioMed Res Int* 1: 985312. <https://doi.org/10.1155/2015/985312>
2. *Bovonsunthonchai S, Hengsomboon P, Tangluang S, Anusri P, Chotikul P, Phiwmou W* (2019) The effect of sound and vibration on postural balance in healthy young adults. *Walailak J SciTechnol (WJST)* 16(12): 975–983. <https://doi.org/10.48048/wjst.2019.5572>
3. *Bove M, Fenoglio C, Tacchino A, Pelosin E, Schieppati M* (2009) Interaction between vision and neck proprioception in the control of stance. *Neuroscience* 164(4): 1601–1608. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.09.053>
4. *Zhong X, Yost WA* (2013) Relationship between postural stability and spatial hearing. *J Am Acad Audiol* 24: 782–788. <https://doi.org/10.3766/jaaa.24.9.3>
5. *Timofeeva OP, Gvozdeva AP, Bobrova EV, Andreeva IG* (2019) Anticipatory Postural Adjustments for Auditory Motion Information. *J Evol Biochem Phys* 55: 502–505. <https://doi.org/10.1134/S0022093019060097>
6. Стабилоанализатор компьютерный с биологической обратной связью. Руководство пользователя. (2023) ЛТБЖ.941329.002 РП. ЗАО “ОКБ “РИТМ” Таганрог. [Stabiloanalyzer with Biofeedback. User Manual. (2023) ОКБ “Rhythm” Taganrog. (In Russ)].
7. *Schubert P, Kirchner M* (2014) Ellipse area calculations and their applicability in posturography. *Gait & Posture* 39(1): 518–522. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2013.09.001>
8. *Chen X, Qu X* (2017) Influence of affective auditory stimuli on balance control during static stance. *Ergonomics* 60: 404–409. <https://doi.org/10.1080/00140139.2016.1182649>
9. *Gandemer L, Parseihian G, Kronland-Martinet R, Bourdin C* (2014) The influence of horizontally rotating sound on standing balance. *Exp Brain Res* 232: 3813–3820. <https://doi.org/10.1007/s00221-014-4066-y>
10. *Soames RW, Raper SA* (1992) The influence of moving auditory fields on postural sway behaviour in man. *Eur J Appl Physiol* 65: 241–245. <https://doi.org/10.1007/BF00705088>
11. *Timofeeva OP, Andreeva IG* (2022) Human Postural Responses to Single Sound Signals with Different Emotional Content. *J Evol Biochem Phys* 58: 1262–1274. <https://doi.org/10.1134/S0022093022040287>
12. *Timofeeva OP, Gvozdeva AP, Shamantseva ND, Moshonkina TR, Andreeva IG* (2023) Destabilization of Human Vertical Posture by Affective Auditory Stimuli. *Human Physiol* 49(Suppl 1): S28–S41. <https://doi.org/10.1134/S036211972370055X>
13. *Agueva MY, Al'tman YA, Kirillova IY* (2006) Effects of a sound source moving in a vertical plane on postural responses in humans. *Neurosci Behav Physiol* 36: 773–780. <https://doi.org/10.1007/s11055-006-0087-8>
14. *Andreeva IG, Bobrova EV, Antifeev IE, Gvozdeva AP* (2018) Aftereffects of Approaching and Receding Sound Sources on Postural Responses in Humans. *Neurosci Behav Physiol* 48: 45–53. <https://doi.org/10.1007/s11055-017-0528-6>
15. *Siedlecka B, Sobera M, Sikora A, Drzewowska I* (2015) The influence of sounds on posture control. *Acta Bioeng Biomech* 17: 95. <https://doi.org/10.5277/ABB-00150-2014-03>
16. *Lubetzky AV, Gospodarek M, Arie L, Kelly J, Roginska A, Cosetti M* (2020) Auditory Input and Postural Control in Adults: A Narrative Review. *JAMA Otolaryngol-Head Neck Surg* 146: 480–487. <https://doi.org/10.1001/jamaoto.2020.0032>
17. *Chiba R, Takakusaki K, Ota J, Yozu A, Haga N* (2016) Human upright posture control models based on multisensory inputs; in fast and slow dynamics. *Neurosci Res* 104: 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2015.12.002>
18. *Shanbhag J, Wolf A, Wechsler I, Fleischmann S, Winkler J, Leyendecker S, Eskofier BM, Koelewijn AD, Wartack S, Miehling J* (2023) Methods for integrating postural control into biomechanical human simulations: A systematic review. *J Neuroeng Rehabil* 20: 111. <https://doi.org/10.1186/s12984-023-01235-3>
19. *Wilkin H* (1949) Perception of body position and the position of the visual field. *Psychooigil Monographs: General and Applied* 63: 1–46. <https://doi.org/10.1037/h0093613>

20. *Wapner S, Demick J* (eds) (2014) Field Dependence-independence: Bio-psycho-social Factors across the Life Span. New York. Psychology.
21. *Isableu B, Ohlmann Th, Cremieux J, Amblard B* (2003) Differential approach to strategies of segmental stabilization in postural control. *Exp Brain Res* 150: 208–221.  
<https://doi.org/10.1007/s00221-003-1446-0>
22. *Timofeeva OP, Andreeva IG* (2021) Postural control features of field-dependent and field-independent subjects in the absence of visual and audio information. *Human Physiol* 47: 374–381.  
<https://doi.org/10.1134/S0362119721040150>
23. *Andreeva IG, Gvozdeva AP, Bobrova E, Gerasimenko YuP* (2018) Differences in the postural responses to approaching and receding sound images in subjects with different perceptual styles. *Dokl Biol Sci* 482 (1): 6178–6181.
24. *Тимофеева ОП, Гвоздева АП, Боброва ЕВ, Андреева ИГ* (2020) Постуральные колебания у людей с разным когнитивным стилем при ожидании слуховой информации о движении. *Журн высш нервн деят им ИП Павлова* 70: 752–762. [*Timofeeva OP, Gvozdeva AP, Bobrova EV, Andreeva IG* (2020) Postural sway in humans with different cognitive styles at waiting auditory motion. *Zhurn vyssh nervn deyat* 70: 752–762. (In Russ)].  
<https://doi.org/10.31857/S00444677200601064>
25. *Timofeeva OP, Andreeva IG, Gvozdeva AP* (2021) Dynamics of Postural Indices in Case of Listening to Sounds of Steps Approaching from the Front and from Behind. *J Evol Biochem Phys* 57: 1522–1532.  
<https://doi.org/10.1134/S0022093021060284>
26. *Keith RW* (2000) Development and Standardization of SCAN-C Test for Auditory Processing Disorders in Children. *J Am Acad Audiol* 11: 438–445.  
<https://doi.org/10.1055/s-0042-1748131>  
<https://psylist.net/praktikum/00299.htm?ysclid=lzgywt2qmq711934847>
27. *Stevens MN, Barbour DL, Gronski MP, Hullar TE* (2016) Auditory contributions to maintaining balance. *J Vestib Res* 26: 433–438.  
<https://doi.org/10.3233/VES-160599>
28. *Isableu B, Fourre B, Vuillerme N, Giraudet G, Amorim MA* (2011) Differential integration of visual and kinaesthetic signals to upright stance. *Exp Brain Res* 212: 33–46.  
<https://doi.org/10.1007/s00221-011-2693-0>
29. *Кожевникова ЕВ* (1989) Восприятие приближения и удаления звука шагов, условия возникновения перцептивного эффекта движения. *Сенсор сист* 3(1): 93–100. [*Kozhevnikova EV* (1989) Perception of approaching and moving away of a sound source (footsteps): Factors determining the perceptual effect of movement. *Sensor systems* 3(1): 93–100. (In Russ)].
30. *Witkin HA, Goodenough DR* (1977) Field dependence and interpersonal behavior. *Psychol Bull* 84: 661–689.  
<https://doi.org/10.1037/0033-2909.84.4.661>



## **Postural Reactions to the Sounds of Approaching Footsteps from in Front and Behind in People with Different Perceptive-Cognitive Styles**

**O. P. Timofeeva<sup>a</sup>, and I. G. Andreeva<sup>a, \*</sup>**

*<sup>a</sup>Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry Russian Academy of Sciences,  
St. Petersburg, Russia*

*\*E-mail: ig-andreeva@mail.ru*

The perceptual-cognitive style (field-dependence or field-independence) determines the principal modality in space orientation and influences in posture control without distant stimulation. The aim of the work was to analyze stabilometric parameters in groups of field-dependent (FD) and field-independent (FI) subjects to describe vertical posture sway in response to a conspecific movement (human steps). The stabilograms were recorded for two groups of subjects (12 FD and 12 FI) in standard postures - heels together, toes apart, hands down along the body, eyes closed. The sounds of steps were created on the basis of a pre-recording in a room with reverberation. In free field three types of stimulation were used: steps approaching from behind and from the front; a control signal - a repeated step in place, given from behind. The changes of the center of pressure (CoP) position were analyzed for 64 s with a period of 8 s: before (1), during (3) and after (4) stimulation. The CoP parameters were the c and the length of CoP trajectory along the sagittal axis, and the area of the confidence ellipse. A slight destabilization of the posture during sound stimulation was shown in both groups of subjects. Differences between the groups were revealed: with the onset of the approaching step sounds the FD-subjects shifted the CoP away from the sounds (the "run" strategy), while the FI subjects shifted the CoP toward the sounds (the "hit" strategy). The results obtained substantiate the possibility to use the conspecific sound stimulation in rehabilitation procedures in the treatment of musculoskeletal diseases taking into account the individual characteristics of perception in patients.

**Keywords:** postural control, conspecific motion, space orientation, multisensory interaction, cognition style, field-dependence

---

---

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

---

---

**РОЛЬ ФОСФОЛИПАЗЫ C В МОДУЛЯЦИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ  
АКТИВНОСТИ ПРЕДСЕРДНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ РАЗВИВАЮЩИХСЯ  
КРЫС ПРИ СТИМУЛЯЦИИ  $\alpha 1$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ**

© 2024 г. Н. Мансур<sup>1,\*</sup>, А. Л. Зефиров<sup>2</sup>, Н. И. Зиятдинова<sup>1</sup>, Т. Л. Зефиров<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный  
университет, Казань, Россия*

<sup>2</sup>*Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

*\*E-mail: nourm94@mail.ru*

Поступила в редакцию 10.07.2024 г.

После доработки 25.09.2024 г.

Принята к публикации 14.10.2024 г.

Большинство существующих исследований сосредоточено на механизмах регуляции мембранного электрогенеза через  $\beta$ -адренорецепторы, в то время как электрофизиологические эффекты  $\alpha 1$ -адренорецепторов ( $\alpha 1$ -АР) остаются малоизученными. Участие фосфолипазы C (PLC) в этих эффектах остается неясным, и изучение неселективного агониста подтипов  $\alpha 1$ -АР метоксамина в присутствии ингибитора PLC (U-73122) может прояснить важность PLC в модуляции электрической активности кардиомиоцитов у крыс разных возрастов. Исследование проводилось на 7-, 21- и 100-дневных белых крысах с использованием микроэлектродной техники. Для анестезии использовали уретан, после чего проводили изоляцию сердца и готовили препарат миокарда предсердий с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью. Затем регистрировали электрическую активность кардиомиоцитов. Применяли агонист  $\alpha 1$ -АР метоксамин и ингибитор PLC U-73122. Стимуляция  $\alpha 1$ -АР метоксамином в рабочих кардиомиоцитах правого предсердия крыс разного возраста приводила к увеличению частоты генерации потенциала действия. Метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М увеличивал длительность потенциала действия у 7-дневных крыс, тогда как у 21- и 100-дневных крыс наблюдалось его уменьшение. U-73122 полностью блокировал действие метоксамина во всех возрастных группах, что указывает на важную роль PLC в этих процессах. Результаты показывают, что возраст влияет на реакцию кардиомиоцитов на стимуляцию  $\alpha 1$ -АР, а PLC является ключевым элементом в механизмах, обеспечивающих эти эффекты.

*Ключевые слова:* фосфолипаза C, метоксамин, U-73122, длительность потенциала действия, сердце, крыса

**DOI:** 10.31857/S0869813924120026, **EDN:** VGEGPQ

## ВВЕДЕНИЕ

Адренергические рецепторы впервые были представлены Ahlquist в 1948 г. [1] как различные типы рецепторов, которые активируются одними и теми же катехоламинами, но проявляют противоположные фенотипы в организме. Он определил их как подтипы  $\alpha$  и  $\beta$ . Антагонисты  $\alpha$ -рецепторов празозин и йохимбин были использованы для дальнейшей

подклассификации этих рецепторов как  $\alpha$ -1 и  $\alpha$ -2 [2].  $\alpha$ 1-Адренорецепторы ( $\alpha$ 1-АР) опосредуют многие важные функции во многих системах органов, включая сердечно-сосудистую, мочеполовую и центральную нервную систему. В сердечно-сосудистой системе все три подтипа  $\alpha$ 1-АР были обнаружены в кровеносных сосудах, и их активация в различной степени способствует вазоконстрикции [3]. Физиологическая активность сосудистых  $\alpha$ 1-АР имеет первостепенное значение для системной сердечно-сосудистой регуляции [4].

$\alpha$ 1-АР представляют собой семь GPCR трансмембранного домена, участвующих в многочисленных физиологических функциях, контролируемых эндогенными катехоламинами, норадреналином и адреналином, на которые нацелены лекарственные средства, полезные в терапии. Три отдельных гена, продукты которых названы  $\alpha$ 1A-АР,  $\alpha$ 1B-АР и  $\alpha$ 1D-АР, кодируют эти рецепторы. Несмотря на то, что существование множества  $\alpha$ 1-АР признано уже 30 лет, их специфические функции все еще в значительной степени неизвестны [5].

При активации агонистами, такими как норадреналин,  $\alpha$ 1-АР активируют несколько внутриклеточных сигнальных путей, опосредованных G-белками. Активация фосфолипазы C (PLC) гидролизует фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат ( $\text{PIP}_2$ ) для получения инозитол 1,4,5-трисфосфата ( $\text{IP}_3$ ) и диацилглицерола (DAG), который является путем PLC- $\text{IP}_3$  [6]. В сердце присутствует несколько изоформ PLC из семейств  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$ . Активация PLC происходит через гептаспиральные рецепторы, связанные с G-белком ( $\text{PLC}\beta$ ), рецепторные тирозинкиназы ( $\text{PLC}\gamma$ ),  $\text{PIP}_2$  и  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{PLC}\delta$ ) или Ras ( $\text{PLC}\epsilon$ ). Наибольший интерес для нас представляет  $\text{PLC}\beta$ , так как его активация происходит через рецепторы, связанные с G-белками [7].

Активация PLC приводит к образованию двух продуктов –  $\text{IP}_3$  и DAG, которые играют важную роль в качестве вторичных мессенджеров в клетке.  $\text{IP}_3$ , будучи гидрофильным соединением, перемещается из сарколеммы в цитоплазму.

Активированный  $\text{IP}_3$ -рецептор на клеточном уровне способствует преобразованию электромеханического сопряжения посредством сенситизации рианодиновых рецепторов. В экспериментах на предсердных и желудочковых кардиомиоцитах было установлено, что активация  $\text{IP}_3$ -R способствует положительному инотропному эффекту. Это происходит за счет локального высвобождения  $\text{Ca}^{2+}$  через  $\text{IP}_3$  в непосредственной близости от рианодиновых рецепторов, способствуя кальций-зависимому высвобождению кальция. Активация  $\text{IP}_3$ -рецепторов может также иметь значение в развитии  $\text{Ca}^{2+}$  опосредованной аритмии [8, 9]. Повышенные уровни  $\text{IP}_3$ -R наблюдались не только у лабораторных крыс, но и у людей с аналогичными заболеваниями сердца [10]. Активация  $\text{IP}_3$ -R, расположенного непосредственно на ядерной мембране, может вызывать локальное увеличение ядерной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  [11], а также изменение активности различных факторов транскрипции и регуляции метаболических путей [12].

Основная функция DAG, образующегося при гидролизе  $\text{PIP}_2$ , – активация протеинкиназы C (PKC). В кардиомиоцитах новорожденных крыс обнаружено 6 изоформ PKC [13]. У взрослых крыс в миокарде остаются только 3 изоформы, а остальные изоформы PKC исчезают с возрастом [14]. Различные изоформы PKC имеют множество мишеней в миокарде. PKC также считается важным регулятором работы каналов тока  $\text{I}_{\text{K}}$ s.  $\text{I}_{\text{K}}$ s снижается в миоцитах мышей и крыс в ответ на активацию PKC. Другие калиевые токи, присутствующие в кардиомиоцитах, также находятся под влиянием PKC. Действие обменника  $\text{Na}/\text{Ca}$  усиливается при его фосфорилировании протеинкиназами. Кроме того, PKC действует на киназы  $\beta$ -адренергических рецепторов, мускариновые рецепторы, транскрипционные факторы и гены, а также на многие другие мишени [15, 16].

U-73122 представляет собой высокоселективный ингибитор PLC, обладающий хорошей проникаемостью через клеточную мембрану благодаря своим липофильным свойствам. U-73122 ингибировал гидролиз PI и синтез  $\text{IP}_3$  в разрушенных клеточных системах и уменьшал вызванное агонистами повышение уровня цитоплазматической концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ ) в интактных клетках, таких как нейтрофилы, клетки нейробластомы, ацинарные клетки и тромбоциты. Таким образом, U-73122 получил общее признание

как специфический ингибитор фосфоинозитид-специфической фосфолипазы C (PI-PLC), а ингибирование повышения  $[Ca^{2+}]$  цито в интактных клетках с помощью U-73122 было интерпретировано как свидетельство вклада PI-PLC в ответ, включая гладкие мышцы [17].

Недавние исследования на крысах показали, что стимуляция  $\alpha 1$ -АР неселективным агонистом подтипов  $\alpha 1$ -АР метоксамином снижает скорость сокращения изолированного сердца взрослой крысы. Выраженность эффекта зависит от концентрации агониста. Внутривенное введение метоксамина также приводит к сердечной брадикардии во всем организме [18]. У новорожденных крыс стимуляция  $\alpha 1$ -АР, независимо от концентрации метоксамина, приводила к отрицательной инотропной реакции миокарда предсердий и желудочков [19]. Активация  $\alpha 1$ -АР метоксамином также влияет на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов крыс с сохраненными синусовыми узлами. У 7-дневных крыс агонист  $\alpha 1$ -АР метоксамин увеличивал длительность фазы реполяризации потенциала действия как в наванязанном, так и в собственном ритме [20]. Однако метоксамин оказывал двойное влияние на длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов у 20-недельных крыс. При наванязанном ритме метоксамин увеличивал длительность фазы реполяризации потенциала действия, при собственном ритме – уменьшал. [21]. В отличие от взрослой крысы, адренергическая регуляция в сердце новорожденной крысы имеет незрелую симпатическую иннервацию. 21-дневный возраст характеризуется началом формирования адренергической иннервации сердца крыс и самой большой частотой сердечных сокращений. В связи с вышесказанным, особый интерес представляют исследования на животных разного возраста [22].

Целью нашего исследования было выявить участие PLC в реализации эффектов, вызванных избирательной стимуляцией  $\alpha 1$ -АР на электрическую активность кардиомиоцитов у крыс разного возраста.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на 7-дневных (новорожденных) ( $n = 20$ ), 21-дневных ( $n = 20$ ) и 100-дневных (взрослых) ( $n = 17$ ) белых крысах с использованием микроэлектродной техники. Эти возрастные группы были выбраны в соответствии с уровнем развития вегетативной регуляции сердца. Крысы содержались в клетках со свободным доступом к воде и пище. Для анестезии внутрибрюшинно вводили 25%-ный раствор уретана из расчета 1.2 г/кг массы тела животного. После инъекции уретана вскрывали грудную клетку, затем вырезали сердце и переносили его в чашку Петри. Был приготовлен препарат миокарда предсердий с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью. Во время эксперимента препарат правого предсердия погружали в специальный резервуар, куда подавался термостатированный рабочий раствор Тироде (состав в ммоль/л: NaCl 133.47, KCl 4.69,  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  1.35,  $NaHCO_3$  16.31,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1.18,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  2.5, глюкоза 7.77), и насыщали газовой смесью, состоящей из 95% кислорода и 5% углекислого газа ( $37 \pm 1$  °C). pH поддерживался на уровне 7.3–7.4. Внутриклеточный потенциал действия регистрировали с помощью усилителя (A-M Systems) стеклянными микроэлектродами с сопротивлением 25–60 МΩ и диаметром кончика < 1 мкм (BF120-60-10 “Sutter Instruments”), которые изготавливались в день эксперимента на горизонтальном пуллере P-1000 (“Sutter Instruments”). После 35–40 мин ожидания адаптации препарата регистрировали контрольные сигналы, затем в рабочем растворе растворяли агонист  $\alpha 1$ -АР метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М и применяли для регистрации [18]. Для оценки участия фосфоинозитольного каскада в реализации эффектов, вызванных избирательной стимуляцией  $\alpha 1$ -АР, были проведены эксперименты с применением ингибиторов PLC: U-73122 ( $10^{-5}$  М) [17]. Для изучения стимуляции  $\alpha 1$ -АР метоксамином на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности миокарда у крыс разного возраста мы регистрировали контрольные сигналы, затем в рабочем растворе растворяли блокатор PLC-U-73122 (Токрис) в концентрации  $10^{-5}$  М, через 20 мин добавляли

агонист  $\alpha 1$ -АР метоксаметин ( $10^{-8}$  М) и проводили регистрацию. Используемые концентрации были основаны на предыдущих экспериментах. Сигналы регистрировали с помощью программы Elph 3.0. Регистрация мембранного потенциала, потенциала действия, длительности деполяризации, амплитуды потенциала действия и длительности потенциала действия (ДПД) определялась на уровне 20% (ДПД 20%), 50% (ДПД 50%) и 90% (ДПД 90%) фазы реполяризации. Нормальность распределения проверяли с использованием теста Шапиро–Уилка, статистическую значимость оценивали с помощью One Way ANOVA для сравнения двух групп. Когда нормальность распределения отсутствовала, тестировали все процедуры попарного множественного сравнения с использованием метода Холма–Сидака. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Влияние стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксаметин и метоксаметин на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов у 7-дневных крысят с сохраненными синусовыми узлами и спонтанной активностью*

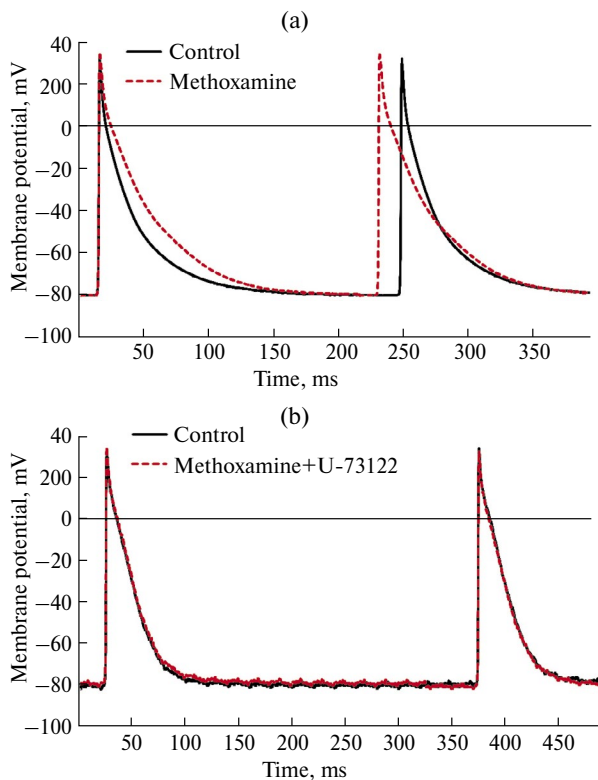
Метоксаметин в концентрации  $10^{-8}$  М у новорожденных крысят ( $n = 10$ , рис. 1, 2) увеличивал длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% с  $6.9 \pm 0.2$  до  $9.8 \pm 0.4$  мс, с  $21.5 \pm 0.7$  до  $30.12 \pm 0.7$  мс, с  $67.4 \pm 2.4$  до  $85.67 \pm 1.4$  мс, что составляет 43.5% ( $p < 0.01$ ), 40% ( $p < 0.01$ ) и 27% ( $p < 0.01$ ) соответственно, тогда как длительность фазы деполяризации не изменялась ( $2 \pm 0.06$  до  $1.9 \pm 0.03$  мс). Значения амплитуды потенциала действия ( $108.3 \pm 2.2$  до  $110 \pm 3.1$  мВ) и мембранного потенциала ( $-83.1 \pm 0.07$  до  $-83.2 \pm 0.09$  мВ) также не изменились. Метоксаметин в концентрации  $10^{-8}$  М увеличивал частоту спонтанной активности у 7-дневных крысят с  $78.3 \pm 2.6$  до  $111.3 \pm 3.1$  пиков/мин, что составляет 42% ( $p < 0.01$ ).

Следующим этапом работы стало изучение стимуляции  $\alpha 1$ -АР метоксаметин на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности миокарда у 7-дневных крысят ( $n = 10$ , рис. 1, 2) с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью. U-73122 в отдельности не оказывал значимого воздействия на изучаемые электрофизиологические показатели. Применение метоксаметина в концентрации  $10^{-8}$  М на фоне U-73122 ( $10^{-5}$  М) у новорожденных крысят не изменяло мембранный потенциал, амплитуду потенциала действия, длительность фазы деполяризации и длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90%. Метоксаметин на фоне U-73122 не изменял частоту спонтанной активности 7-дневных крысят.

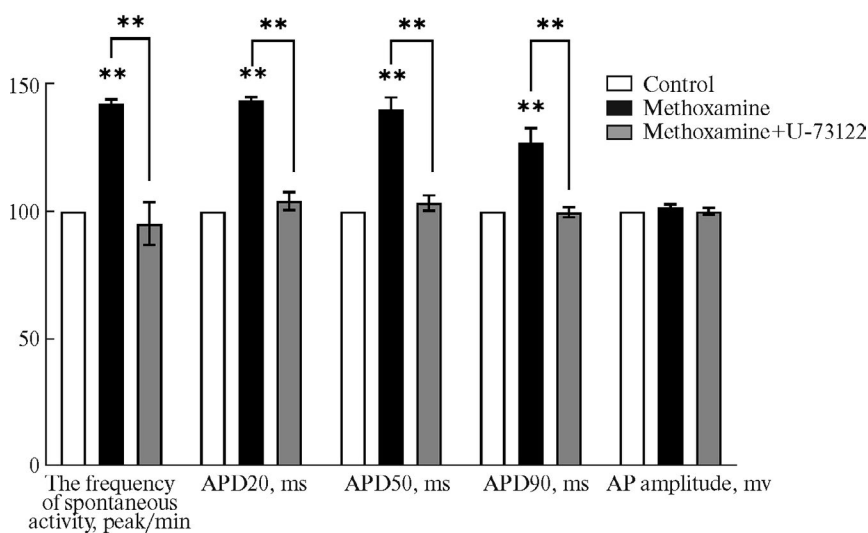
### *Влияние стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксаметин и метоксаметин на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов у 21-дневных крыс с сохраненными синусовыми узлами и спонтанной активностью*

Применение метоксаметина в концентрации  $10^{-8}$  М у 21-дневных животных ( $n = 10$ , рис. 3, 4) не изменяло мембранный потенциал ( $-82.8 \pm 0.25$  до  $-83.4 \pm 0.3$  мВ) и амплитуду потенциала действия ( $103.3 \pm 2.9$  до  $100.9 \pm 2.6$  мВ). Длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% уменьшилась с  $6.4 \pm 0.3$  до  $5.33 \pm 0.25$  мс, с  $20.1 \pm 0.7$  до  $17.5 \pm 0.6$  мс, с  $65.4 \pm 2.5$  до  $56.77 \pm 2.6$  мс, что составляет 16.5% ( $p < 0.01$ ), 13% ( $p < 0.05$ ) и 13.1% ( $p < 0.05$ ) соответственно. Метоксаметин в концентрации  $10^{-8}$  М увеличивал частоту спонтанной активности у 21-дневных крыс с  $125.7 \pm 4.4$  до  $156.6 \pm 7.5$  пиков/мин, что составляет 24.5% ( $p < 0.05$ ).

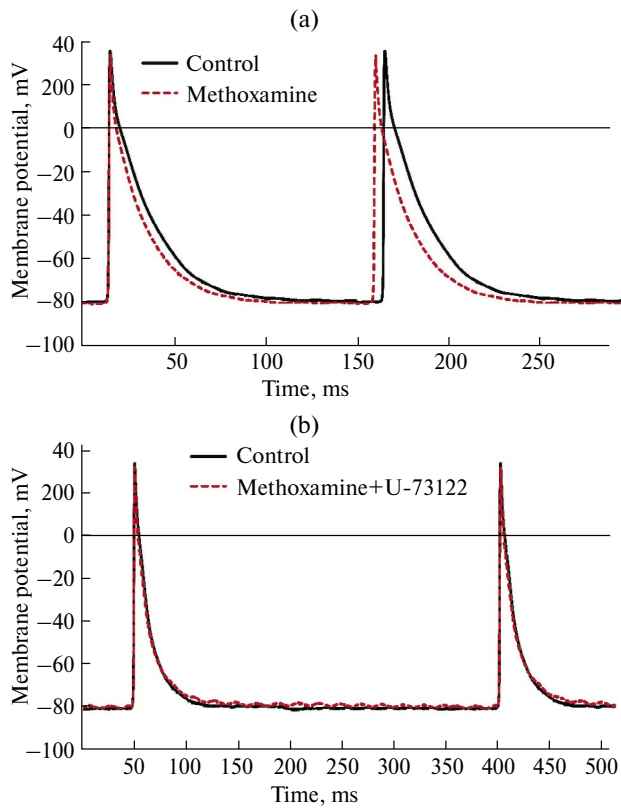
U-73122 в отдельности не оказывал значимого воздействия на изучаемые электрофизиологические показатели. Применение метоксаметина в концентрации  $10^{-8}$  М на фоне U-73122 ( $10^{-5}$  М) у 21-дневных крыс ( $n = 10$ , см. рис. 3, 4) не изменяло мембранный потенциал, амплитуду потенциала действия, длительность фазы деполяризации и длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90%. Метоксаметин на фоне U-73122 не изменял частоту спонтанной активности у 21-дневных крыс.



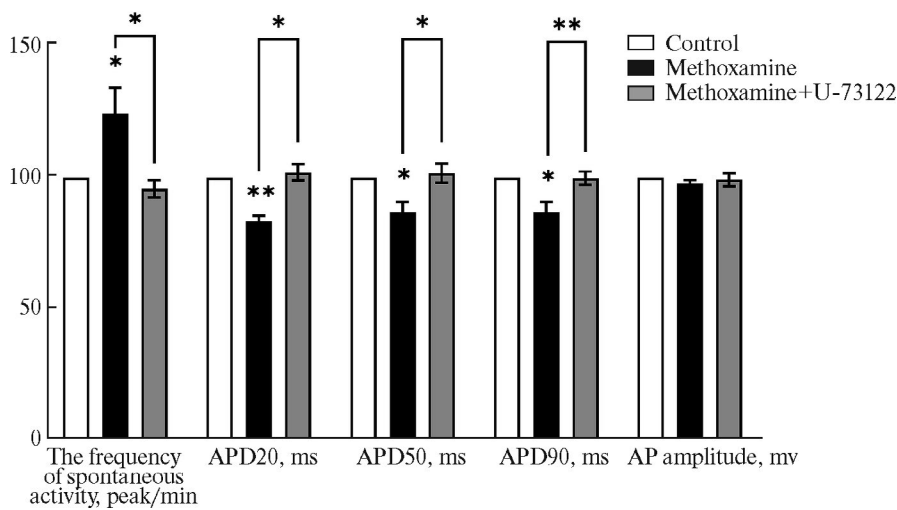
**Рис. 1.** Оригинальные записи электрической активности, демонстрирующие изменения конфигурации ПД в рабочем миокарде правого предсердия 7-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью при стимуляции метоксамином (а) и на фоне блокады фосфолипазы С ингибитором U-73122 (б).



**Рис. 2.** Эффект (в процентах) метоксamina и метоксamina + U-73122 на амплитудно-временные параметры у 7-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью (\*\*  $p < 0.01$ ).



**Рис. 3.** Оригинальные записи электрической активности, демонстрирующие изменения конфигурации ПД в рабочем миокарде правого предсердия 21-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью при стимуляции метоксamiном (а) и на фоне блокады фосфолипазы С ингибитором U-73122 (б).

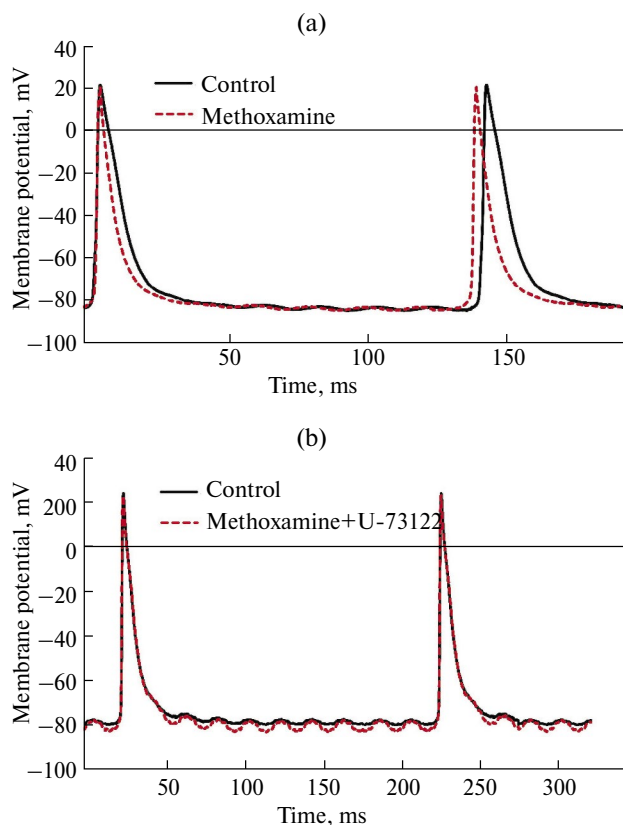


**Рис. 4.** Эффект (в процентах) метоксamiна и метоксamiна + U-73122 на амплитудно-временные параметры у 21-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью (\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ).

*Влияние стимуляции  $\alpha 1$ -АР метоксамином и метоксамином на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов у 100-дневных крыс с сохраненными синусовыми узлами и спонтанной активностью*

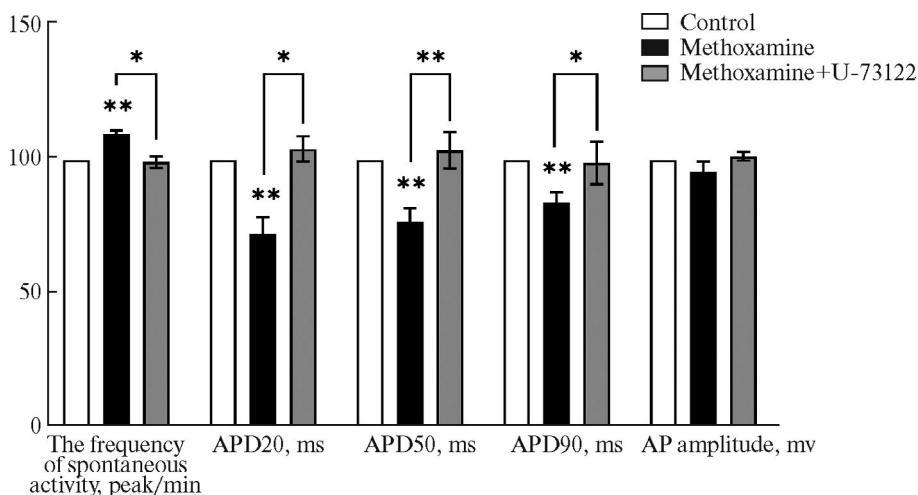
Метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М у 100-дневных крыс ( $n = 10$ , рис. 5, 6) уменьшал длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% с  $7.3 \pm 0.5$  до  $5.29 \pm 0.78$  мс, с  $22.63 \pm 1.9$  до  $17.4 \pm 2.5$  мс, с  $71.5 \pm 4.9$  до  $60.08 \pm 6.05$  мс, что составляет 27.5% ( $p < 0.01$ ), 23.1% ( $p < 0.01$ ) и 16% ( $p < 0.01$ ) соответственно, тогда как длительность фазы деполяризации не изменялась (с  $1.4 \pm 0.05$  до  $1.4 \pm 0.04$  мс). Значения амплитуды потенциала действия (с  $109.4 \pm 2.7$  до  $104.7 \pm 1.9$  мВ) и мембранного потенциала (с  $-83.7 \pm 0.2$  до  $-83.3 \pm 0.2$  мВ) также не изменялись. Метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М увеличивал частоту спонтанной активности у 100-дневных крыс с  $164.7 \pm 9.2$  до  $180.96 \pm 9.8$  пиков/мин, что составляет 9.9% ( $p < 0.01$ ).

U-73122 в отдельности не оказывал значимого воздействия на изучаемые электрофизиологические показатели. Применение метоксamins в концентрации  $10^{-8}$  М на фоне U-73122 ( $10^{-5}$  М) у 100-дневных крыс ( $n = 7$ , см. рис. 5, 6) не изменяло мембранный потенциал, амплитуду потенциала действия, длительность фазы деполяризации и длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90%. Метоксамин на фоне U-73122 не изменял частоту спонтанной активности у 100-дневных крыс.



**Рис. 5.** Оригинальные записи электрической активности, демонстрирующие изменения конфигурации ПД в рабочем миокарде правого предсердия 100-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью при стимуляции метоксамином (а) и на фоне блокады фосфолипазы С ингибитором U-73122 (б).





**Рис. 6.** Эффект (в процентах) метоксамина и метоксамина + U-73122 на амплитудно-временные параметры у 100-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью (\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В наших экспериментах мы наблюдали возрастные особенности влияния стимуляции  $\alpha 1$ -АР метоксамином на длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов и частоту генерации потенциала действия. Было показано, что агонист  $\alpha 1$ -АР влияет на длительность реполяризации на уровне ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% у крыс разного возраста. Однако изменений мембранного потенциала, амплитуды потенциала действия и длительности фазы деполяризации не наблюдалось. У новорожденных крыс метоксамин увеличивает продолжительность реполяризации, в то время как у 21- и 100-дневных крыс он вызывал ее уменьшение. Эти данные указывают на то, что передача сигналов  $\alpha 1$ -АР в миокарде предсердий модулируется с возрастом. Выявленные различия влияния стимуляции  $\alpha 1$ -АР метоксамином на длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов могут быть связаны с незрелой регуляцией симпатической иннервации в сердце новорожденных крыс, и это подтверждает важность адренергической регуляции во время развития [23, 24].

Изучение эффектов стимуляции  $\alpha 1$ -АР метоксамином проводилось как отдельно, так и на фоне специфического ингибитора PLC (U-73122). Исследование с блокадой PLC показало, что примененный ингибитор полностью блокирует действие метоксамина во всех возрастных группах (7, 21 и 100 дней). Это позволяет предположить, что PLC играет решающую роль в обеспечении возрастных эффектов метоксамина на электрическую активность предсердий.

Таким образом, в настоящей работе были установлены возрастные особенности противоположного влияния стимуляции  $\alpha 1$ -АР на длительность фазы реполяризации рабочих кардиомиоцитов предсердия и частоту генерации потенциала действия. Эти изменения происходят при активации PLC через передачу сигналов РКС в кардиомиоцитах правого предсердия крыс, что изменяется с возрастом. Активация PLC приводит к образованию двух продуктов –  $IP_3$  и DAG. Существует три типа рецепторов  $IP_3$ , которые различаются по своей связывающей способности с  $IP_3$  и взаимодействию с ионами  $Ca^{2+}$ . Исследования на различных животных показывают, что все три типа рецепторов могут присутствовать в сердце. Тем не менее существуют различия между видами в преобладании определенной изоформы. У большинства видов животных

в предсердиях и желудочках доминирует второй тип рецептора  $IP_3$ -R [25, 26]. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что плотность рецепторов  $IP_3$  в предсердиях примерно в 6 раз выше, чем в желудочках [8]. DAG активирует PKC, которая участвует в различных клеточных функциях, включая старение, фиброз и гипертрофию. Передача сигналов PKC в кардиомиоцитах крыс изменяется с возрастом. Хотя у новорожденных крыс присутствуют все шесть изоформ (альфа, бета1/2, дельта, эpsilon и дзета) [13], три изоформы (альфа, бета1/2) исчезают с возрастом. В миокарде взрослого человека остаются только дельта-, эpsilon- и дзета-изоформы [14]. Возможно, именно передача сигналов разными изоформами PKC может играть роль в развитии и созревании сердца, а потеря определенных изоформ с возрастом может способствовать возрастным изменениям электрической активности кардиомиоцитов. Ионные каналы являются мишенями для фосфорилирования PKC, что представляет собой регуляторный этап с важными последствиями для здоровья и болезней. Показано, что десять различных семейств мембранных белков, отвечающих за транспорт ионов, зависят от  $PIP_2$  для своей активности, и указано конкретное направление контроля активности этих белков со стороны  $PIP_2$ . К ним относятся каналы транзитного рецепторного потенциала (TRP) (шесть семейств TRP: канонических (TRPC), TRP меластатиновых (TRPM), TRP ваниллоидных (TRPV), TRP анкириновых, TRP поликистозных (TRPP) и TRP муколипиновых); а также каналы внутреннего выпрямления калия ( $K_{ir}$ ), каналы  $K_v$ , каналы двухпорового домена калия ( $K_{2p}$ ), кальций-активируемые калиевые каналы ( $K_{Ca}$ ), потенциал-зависимые кальциевые каналы ( $Ca_v$ ), хлоридные каналы, потенциал-зависимые натриевые каналы ( $Na_v$ ), кислоточувствительные ионные каналы (ASICs) и каналы коннексинов ( $Cx_{43}$ ) [16].

Активация PLC и образование  $IP_3$  и DAG важны для регуляции клеточных функций через PKC. Изменения в сигнализации PKC с возрастом, включая потерю изоформ, влияют на развитие сердца и его функции.

Результаты указывают на возможную связь между передачей сигналов PLC и наблюдаемыми возрастными эффектами метоксамина на электрическую активность предсердий, хотя эта связь не является однозначной.

Будущие исследования помогут изучить конкретные сигнальные пути, активируемые PLC, которые включаются при стимуляции  $\alpha 1$ -АР и влияют на продолжительность потенциала действия в разных возрастных группах.

#### ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Н.М., Н.И.З., Т.Л.З.), сбор данных (Н.М.), обработка данных (Н.М.), написание и редактирование манускрипта (Н.М., Н.И.З., Т.Л.З., А.Л.З.).

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Настоящая работа финансировалась за счет средств бюджета Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета. 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 Этическим комитетом Казанского федерального университета, протокол № 39 от 22.12.2022 г.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ahlquist RP* (1948) A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 153: 586–600. <https://doi.org/10.1152/AJPLEGACY.1948.153.3.586>
2. *Van Meel JC, de Jonge A, Timmermans PB, van Zwieten PA* (1981) Selectivity of some alpha adrenoceptor agonists for peripheral alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors in the normotensive rat. *J Pharmacol Exp Therap* 219: 760–767. <https://jpet.aspetjournals.org/content/219/3/760.long>
3. *McGrath JC* (2015) Localization of  $\alpha$ -adrenoceptors: JR Vane Medal Lecture. *Br J Pharmacol* 172: 1179–1194. <https://doi.org/10.1111/BPH.13008/SUPPINFO>
4. *Zhang J, Simpson PC, Jensen BC* (2021) Cardiac  $\alpha$ 1A-adrenergic receptors: Emerging protective roles in cardiovascular diseases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 320: H725–H733. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00621.2020>
5. *Akinaga J, Garcia-Sáinz JA, Pupo SA* (2019) Updates in the function and regulation of  $\alpha$ 1-adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 176: 2343–2357. <https://doi.org/10.1111/BPH.14617>
6. *O'Connell TD, Jensen BC, Baker AJ, Simpson PC* (2014) Cardiac Alpha1-Adrenergic Receptors: Novel Aspects of Expression, Signaling Mechanisms, Physiologic Function, and Clinical Importance. *Pharmacol Rev* 66: 308–333. <https://doi.org/10.1124/PR.112.007203>
7. *Kockskämper J, Zima A V., Roderick HL, Pieske B, Blatter LA, Bootman MD* (2008) Emerging roles of inositol 1,4,5-trisphosphate signaling in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 45: 128–147. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2008.05.014>
8. *Lipp P, Laine M, Tovey SC, Burrell KM, Berridge MJ, Li W, Bootman MD* (2000) Functional InsP3 receptors that may modulate excitation-contraction coupling in the heart. *Current Biol* 10: 939–942. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00624-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00624-2)
9. *Domeier TL, Zima A V., Maxwell JT, Huke S, Mignery GA, Blatter LA* (2008) IP3 receptor-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  release modulates excitation-contraction coupling in rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: 596–604. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01155.2007>
10. *Harzheim D, Movassagh M, Foo RSY, Ritter O, Tashfeen A, Conway SJ, Bootman MD, Roderick HL* (2009) Increased InsP3Rs in the junctional sarcoplasmic reticulum augment  $\text{Ca}^{2+}$  transients and arrhythmias associated with cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 11406–11411. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0905485106>
11. *Ibarra C, Vicencio JM, Estrada M, Lin Y, Rocco P, Rebellato P, Munoz JP, Garcia-Prieto J, Quest AFG, Chiong M, Davidson SM, Bulatovic I, Grinnemo KH, Larsson O, Szabadkai G, Uhlén P, Jaimovich E, Lavandero S* (2013) Local control of nuclear calcium signaling in cardiac myocytes by perinuclear microdomains of sarcolemmal insulin-like growth factor 1 receptors. *Circ Res* 112: 236–245. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.273839>
12. *Gomez AM, Ruiz-Hurtado G, Benitah J-P, Dominguez-Rodriguez A* (2013)  $\text{Ca}^{2+}$  Fluxes Involvement in Gene Expression During Cardiac Hypertrophy. *Curr Vasc Pharmacol* 11: 497–506. <https://doi.org/10.2174/1570161113111040013>
13. *Disatnik MH, Buraggi G, Mochly-Rosen D* (1994) Localization of Protein Kinase C Isozymes in Cardiac Myocytes. *Exp Cell Res* 210: 287–297. <https://doi.org/10.1006/EXCR.1994.1041>
14. *Pucéat M, Hilal-Dandano R, Strulovicin B, Brunton LL, Brown JH* (1994) Differential regulation of protein kinase C isoforms in isolated neonatal and adult rat cardiomyocytes. *J Biol Chem* 269: 16938–16944. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)89480-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)89480-2)
15. *Steinberg SF* (2012) Cardiac actions of protein kinase C isoforms. *Physiology* 27: 130–139. <https://doi.org/10.1152/PHYSIOL.00009.2012>
16. *Gada KD, Logothetis DE* (2022) PKC regulation of ion channels: The involvement of PIP2. *J Biol Chem* 298: 102035. <https://doi.org/10.1016/J.JBC.2022.102035>
17. *MacMillan D, McCarron JG* (2010) The phospholipase C inhibitor U-73122 inhibits  $\text{Ca}^{2+}$  release from the intracellular sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  store by inhibiting  $\text{Ca}^{2+}$  pumps in smooth muscle. *Br J Pharmacol* 160: 1295–1301. <https://doi.org/10.1111/J.1476-5381.2010.00771.X>
18. *Zefirov TL, Khabibrakhmanov II, Ziyatdinova NI, Zefirov AL* (2016) Peculiar Aspects in Influence of  $\alpha$ 1-Adrenoceptor Stimulation on Isolated Rat Heart. *Bull Exp Biol Med* 162: 4–6. <https://doi.org/10.1007/S10517-016-3530-Z>

19. Khabibrakhmanov II, Kuptsova AM, Ziyatdinova NI, Mansour N, Zefirov TL (2020) Alpha(1)-Adrenoceptors Activation Decreases Myocardial Contractility in Newborn Rats. *J Exp Biol Agricult Sci* 322–326.  
[https://doi.org/10.18006/2020.8\(Spl-2-AABAS\).S322.S326](https://doi.org/10.18006/2020.8(Spl-2-AABAS).S322.S326)
20. Mansour N, Ziyatdinova NI, Zefirov TL (2023) Methoxamine Plays a Role in the Regulation of the Electrical Activity of Newborn Rats. *Opera Med Physiol* 10: 59–64.  
<https://doi.org/10.24412/2500-2295-2023-2-59-64>
21. Mansour N, Ziyatdinova NI, Gallieva AM, Shakirov RR, Zefirov TL (2023) Effect of  $\alpha 1$  Adreno-receptors Stimulation on Electrical Activity of Rat Atria. *Biophysics (Russ Feder)* 68: 607–611.  
<https://doi.org/10.1134/S0006350923040115>
22. Robinson RB (1996) Autonomic receptor-effector coupling during post-natal development. *Cardiovas Res* 31: 68–76.
23. Ferron L, Capuano V, Deroubaix E, Coulombe A, Renaud JF (2002) Functional and molecular characterization of a T-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel during fetal and postnatal rat heart development. *J Mol Cell Cardiol* 34: 533–546.  
<https://doi.org/10.1006/jmcc.2002.1535>
24. Protas L, Barbuti A, Qu J, Rybin VO, Palmiter RD, Steinberg SF, Robinson RB (2003) Neuropeptide Y Is an Essential In Vivo Developmental Regulator of Cardiac ICa,L. *Circ Res* 93: 972–979.  
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000099244.01926.56>
25. Li X, Zima A V., Sheikh F, Blatter LA, Chen J (2005) Endothelin-1-induced arrhythmogenic  $\text{Ca}^{2+}$  signaling is abolished in atrial myocytes of inositol-1,4,5-trisphosphate(IP3)-receptor type 2-deficient mice. *Circ Res* 96: 1274–1281.  
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000172556.05576.4c>
26. Bare DJ, Kettlun CS, Liang M, Bers DM, Mignery GA (2005) Cardiac type 2 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor: Interaction and modulation by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Biol Chem* 280: 15912–15920.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M414212200>

## The Role of Phospholipase C in Modulating the Electrical Activity of Atrial Cardiomyocytes in Growing Rats upon Stimulation of $\alpha 1$ -Adrenergic Receptors

N. Mansour<sup>a,\*</sup>, A. L. Zefirov<sup>b</sup>, N. I. Ziyatdinova<sup>a</sup>, and T. L. Zefirov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia*

<sup>b</sup>*Kazan State Medical University, Kazan, Russia*

<sup>\*</sup>*E-mail: nourm94@mail.ru*

Most existing research focuses on the mechanisms regulating membrane electrogenesis through  $\beta$ -adrenergic receptors, while the electrophysiological effects of  $\alpha 1$ -adrenergic receptors ( $\alpha 1$ -ARs) remain poorly understood. The involvement of phospholipase C (PLC) in these effects is unclear, and the study of the non-selective agonist of  $\alpha 1$ -AR subtypes, methoxamine, in the presence of the PLC inhibitor (U-73122) may clarify the importance of PLC in modulating the electrical activity of cardiomyocytes in rats of different ages. The study was conducted on 7-, 21-, and 100-day-old white rats using microelectrode techniques. Urethane was used for anesthesia, after which the heart was isolated, and a preparation of atrial myocardium with a preserved sinoatrial node and spontaneous activity was prepared. The electrical activity of cardiomyocytes was then recorded. To assess the effects, the  $\alpha 1$ -AR agonist methoxamine and the phospholipase C inhibitor U-73122 were applied. Stimulation of  $\alpha 1$ -ARs with methoxamine in working cardiomyocytes of the right atrium of rats of different ages led to an increase in the frequency of action potential generation. Methoxamine at a concentration of  $10^{-8}$  M increased the action potential duration in 7-day-old rats, whereas it decreased in 21- and 100-day-old rats. U-73122 completely blocked the effect of methoxamine in all age groups, indicating the important role of phospholipase C in these processes. The results demonstrate that age influences the response of cardiomyocytes to  $\alpha 1$ -AR stimulation, and phospholipase C is a key element in the mechanisms underlying these effects.

**Keywords:** phospholipase C, methoxamine, U-73122, action potential duration, heart, rat

---

---

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

---

---

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

© 2024 г. П. Д. Правикова<sup>1,\*</sup>, В. С. Москалюк<sup>1</sup>, Д. В. Базовкина<sup>1</sup>,  
Р. В. Кожемякина<sup>1</sup>, В. С. Науменко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт 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-НТ) контролирует множество форм поведения, в том числе агрессию. Активность 5-НТ-системы мозга регулируется не только ее собственными элементами, например, 5-НТ1А- и 5-НТ7-рецепторами, но и различными модуляторами. Среди их множества особое место занимают следовые амины, основной рецептор которых, TAAR1, локализуется на 5-НТ-нейронах пре- и пост-синаптически. 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-НТ, его основного метаболита (5-ГИУК) и мРНК 5-НТ-рецепторов (*Htr1a*, *Htr7*), а также с экспрессией и активностью TRH2 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-НТ-системы у агрессивных крыс установлены во фронтальной коре: увеличенный индекс 5-НТ метаболизма вследствие роста уровня 5-ГИУК. Установлена обратная корреляция между индексом метаболизма 5-НТ и экспрессией NOS1. Нами предположено, что NOS1/NO-система – индикатор функциональной активности 5-НТ-системы в условиях генетически детерминированной агрессии.

**Ключевые слова:** генетически детерминированное агрессивное поведение, 5-НТ-система, TRH2, TAAR1, нейрональная NO-синтаза, крысы

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

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на “великое” снижение преступности (The Great Crime Decline), наблюдаемое 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 domestikации животных: Беляев выдвинул идею о том, что domestikация 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-HT<sub>1A</sub>-рецептор (5-HT<sub>1A</sub>R) 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-HT<sub>1A</sub>R [7] приводит к снижению спонтанной активности серотонинергических нейронов среднего мозга [8]. На различных моделях животных было установлено тормозное влияние агонистов 5-HT<sub>1A</sub>R на агрессивное поведение [9, 10], тогда как у селекционированных на высокую агрессивность крыс было выявлено снижение как функциональной активности 5-HT<sub>1A</sub>R, так и плотности рецепторов в структурах кортико-лимбической системы [11], ответственной за регуляцию агрессивного поведения [12]. Вместе с тем 5-HT<sub>7</sub>-рецептор (5-HT<sub>7</sub>R) 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-HT<sub>7</sub>R и агрессии, но принимая во внимание его возможность менять трансдукцию сигнала 5-HT<sub>1A</sub>R 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-HT<sub>1A</sub>R [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<sup>-/-</sup> 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 (CA) – относительно новая сигнальная система, включающая в себя сходные по структуре к катехоламинам и серотонину биогенные амины [22]. Аналогично количественному соотношению тканевых аутоакоидов и гормонов CA

содержатся в мозге в достаточно низкой концентрации по сравнению с классическими моноаминами [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<sup>-/-</sup> 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 одомашниванию 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 выраженности реакции на перчатку (glove-test) по разработанной ранее четырехбалльной шкале [29]. У селекционируемых агрессивных крыс агрессивно-оборонительная реакция соответствовала:  $-3.4 \pm 0.06$  балла, для ручных крыс  $-3.4 \pm 0.08$  балла, что является показателем высокой степени прирученности (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  $-80^\circ\text{C}$ .

## 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  $-70^\circ\text{C}$ . 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., °C	Длина продукта ПЦР, п.н.
rPol2	F 5'-ttgtcgggcagcagaacgtg-3' R 5'-caatgagacctctctgcctccc-3'	64	186
Nos1	F 5'- gcgagcagagcggccttat -3' R 5'- ttggtgggaggaccgaggg-3'	64	240
Tph2	F 5'-cccaggcagatgaccattcag-3' R 5'-ggaattgtgtgagaatgttggc-3'	59	145
Htr1a	F 5'-ctgtcactctctgccctactctg-3' R 5'-ccagagcacataacccagagtagt-3'	62	175
Htr7	F 5'-tgatctcggtgtgcttcgtc-3' R 5'-gtgacactaacgaaaggcatgac-3'	61	115
Taar1	F 5'-caagttggattggaaggggaaagc-3' R 5'-tcagagtgggtgggataacatagc-3'	62	163

### *Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)*

Содержание 5-НТ и его метаболита 5-ГИУК (5-гидроксииндолуксусная кислота) в мозге оценивали методом ВЭЖХ на колонке Luna C18(2) (размер частиц 5 мкм, L × I.D. 100 × 4.6 мм, “Pepomenex”, 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 °С 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-гидроксibenзилгидразином в качестве ингибитора декарбоксилазы (“Sigma-Aldrich”, США) и 1 мМ дитиотреитолом (“Sigma-Aldrich”, США). Реакцию останавливали добавлением 0.6 М HClO<sub>4</sub>. После инкубации центрифугировали при 12000 об/мин для осаждения белка, затем отбирали супернатант для определения уровня 5-гидрокситриптофана (5-НТР) методом ВЭЖХ (см. выше), используя 25, 50 и 100 пмоль 5-НТР в качестве стандартов. Активность TPH2 оценивали как пмоль 5-НТР, образованного за одну минуту, на 1 мг белка, определяемого по протоколу Брэдфорда.

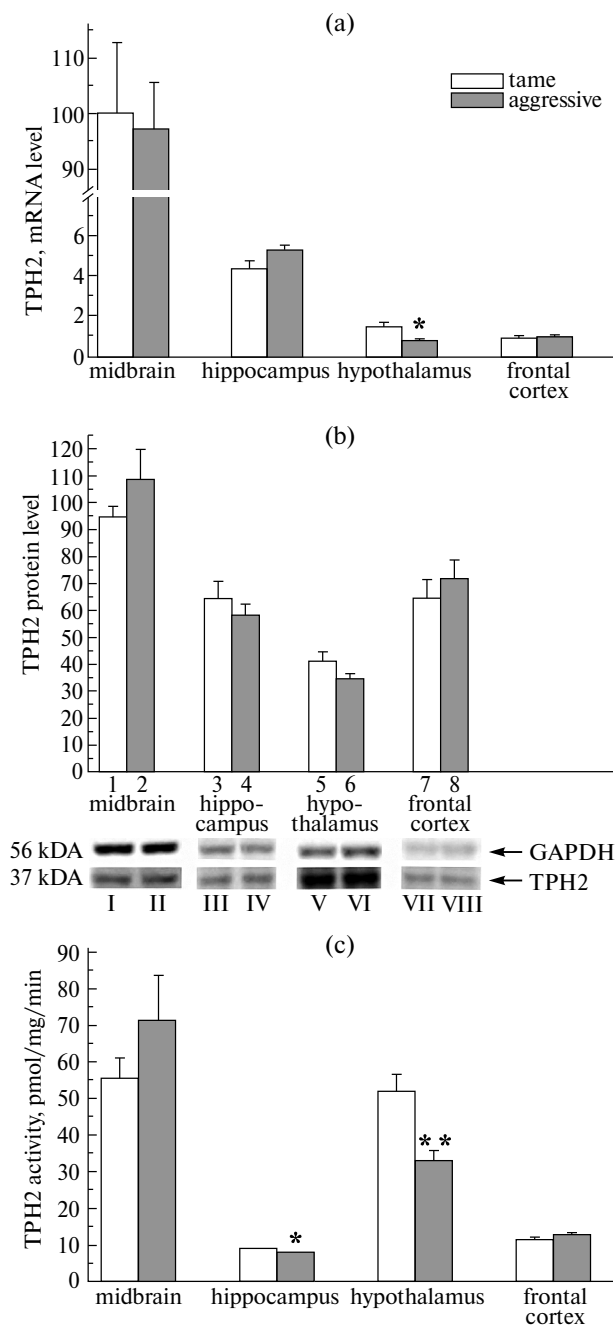
*Вестерн-блот анализ.* Уровень белков TPH2, NOS1, TAAR1 определяли с помощью вестерн-блот анализа, как описано ранее [29]. Белок разделяли с помощью SDS-PAGE гель-электрофореза в 10%-ном разделяющем геле. На одну дорожку наносили 20 мкг для TPH2 и 30 мкг для NOS1 и TAAR1 общего белка. Белок TPH2 детектировали 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 ± 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 г-Пирсона проверялась корреляция между уровнем белка NOS1 и уровнем 5-НТ и 5-ГИУК, а также индексом метаболизма 5-НТ (соотношение 5-ГИУК к 5-НТ).

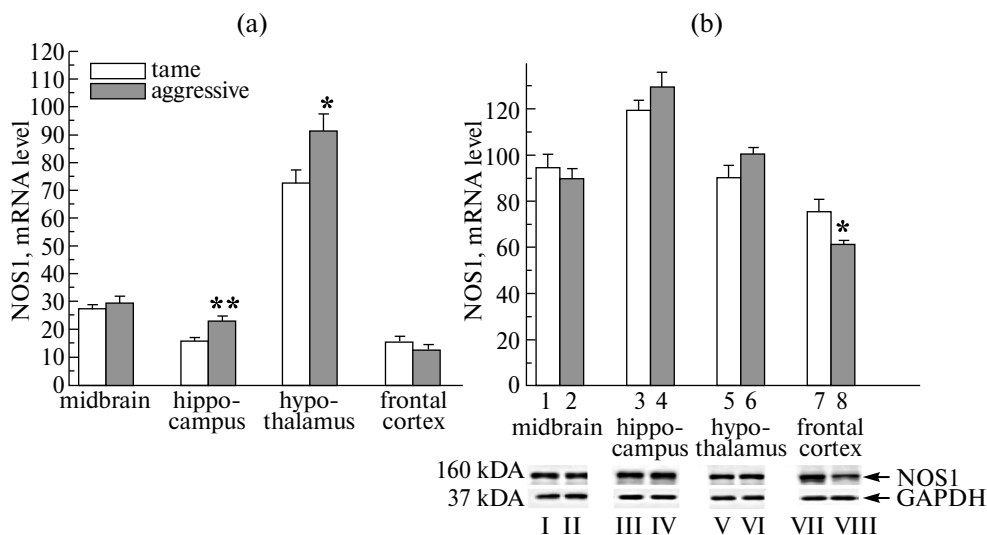
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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 (в) 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* (a) и белка NOS1 (b) 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.

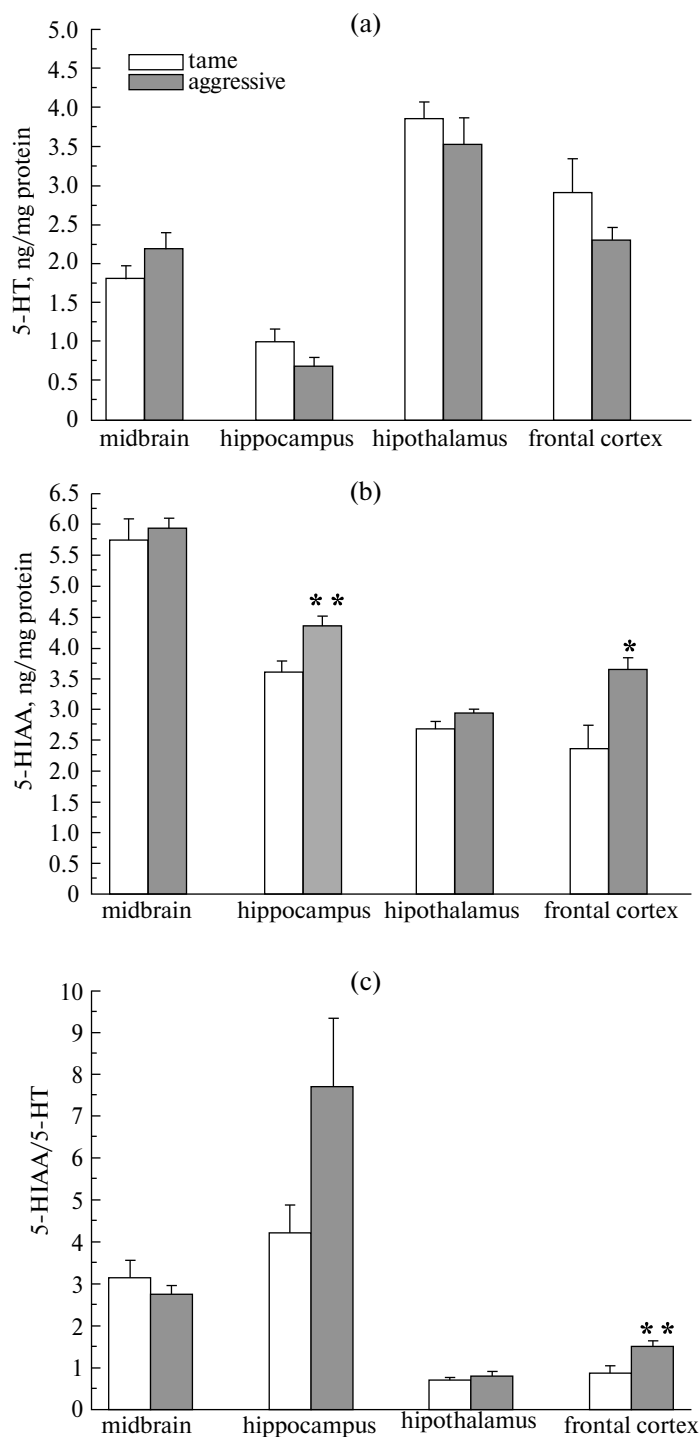
ность фермента и его экспрессия были закономерно выше в среднем мозге по сравнению с другими структурами (см. рис. 1).

Установленная сниженная степень ферментативной активности ТРН2 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. 2a). 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. 2b) на фоне тенденции к повышенной активности ТРН2 ( $F_{(1,14)} = 3.93$ ,  $p = 0.06$ ) (см. рис. 1c).

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. 3a), 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. 3b), 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. 3c).

Уровень мРНК гена *Htr1a*, кодирующего 5-НТ1AR, 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. 4a), в то время как межлинейные различия в уровне экспрессии 5-НТ7R 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. 4b).

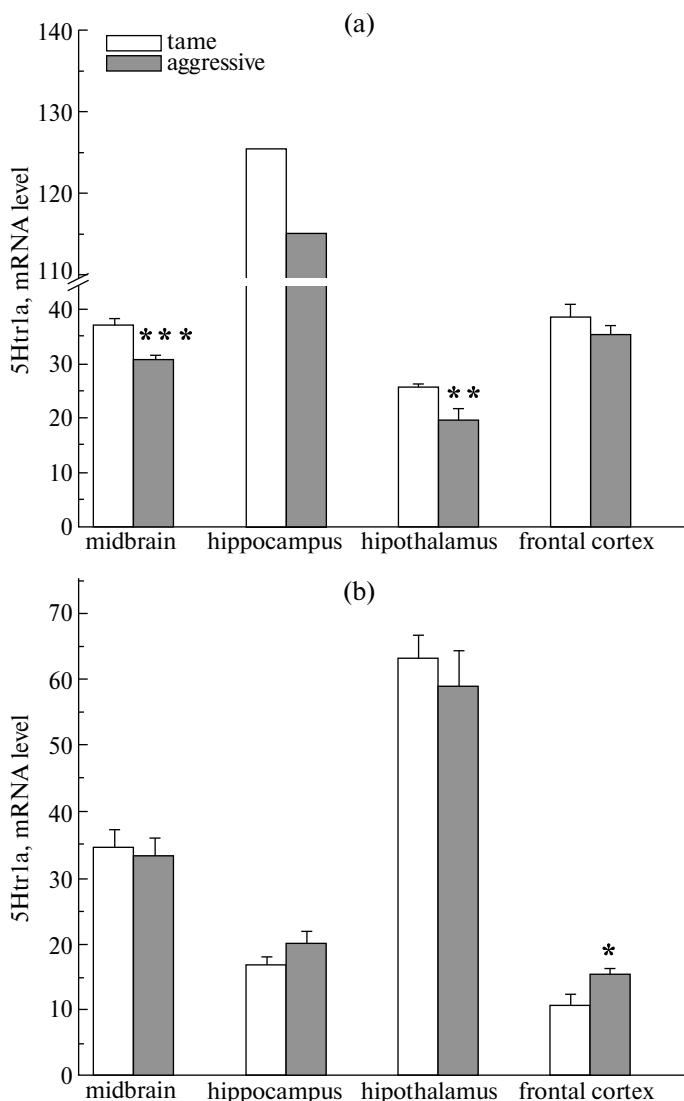
Уровень мРНК гена *Taar1*, кодирующего основной рецептор следовых аминов, детектировался у крыс с генетически детерминированным защитно-оборонитель-



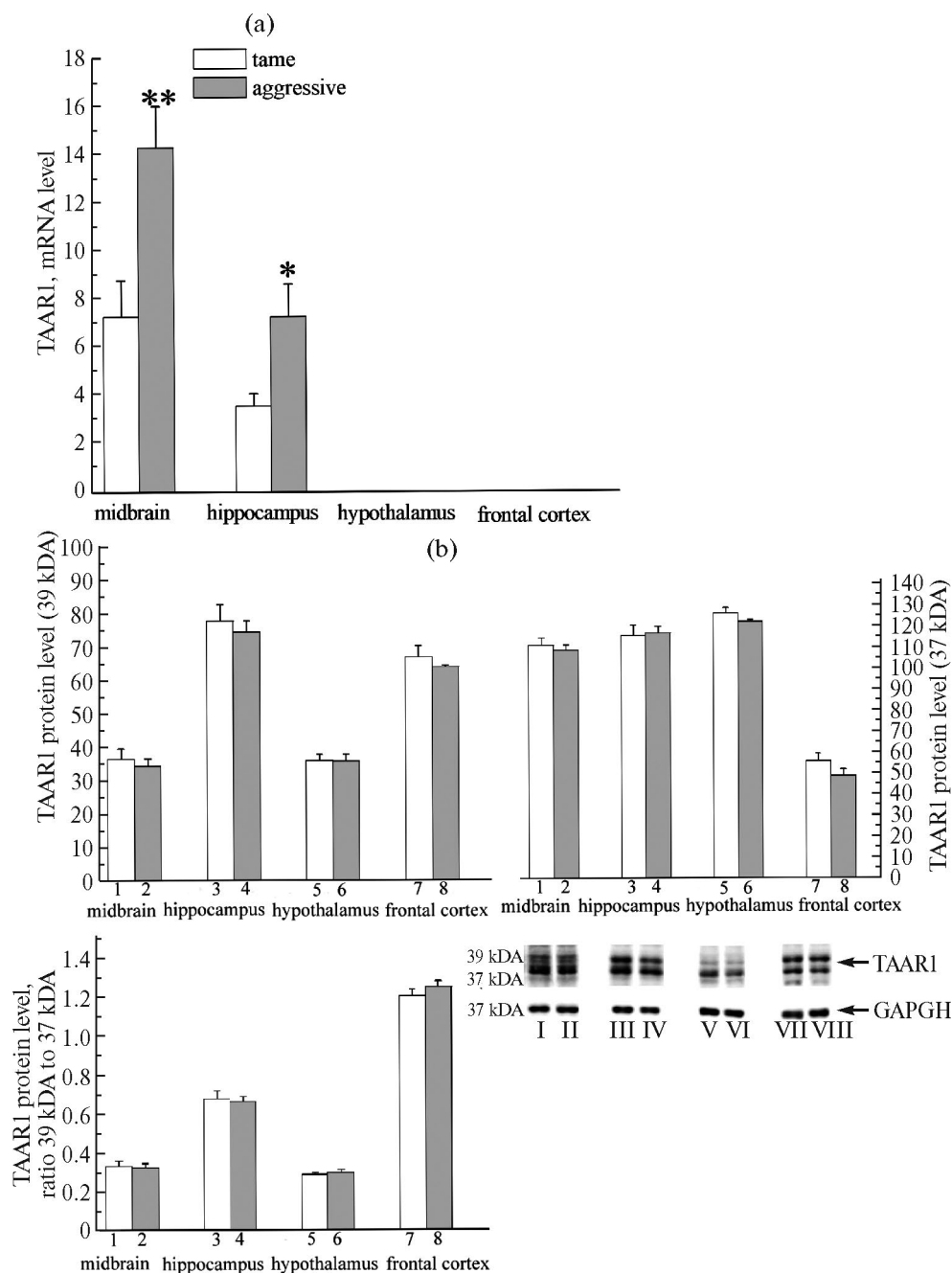
**Рис. 3.** Уровень 5-HT (а), 5-ГИУК (б) и соотношение 5-ГИУК/5-НТ (с) в структурах мозга у ручных и агрессивных крыс.

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. 5a). В то же время уровень белка TAAR1 определялся во всех исследуемых структурах мозга, но при этом не имел межлинейных различий (см. рис. 5b). 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. 5b).



**Рис. 4.** Уровень мРНК генов *Htr1a* (a), *Htr7* (b) 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* (a) и белка TAAR1(b) 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 роль моноаминовых нейротрансмиттерных систем в контроле агрессивных реакций [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 *Tph2* 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 (ONOO<sup>-</sup>), снижающего активность ТПП2 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 *Tph2*. 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 глюкокортикоида (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-НТ1AR [41, 42]. При этом несмотря на отсутствие межлинейных различий в уровне мРНК *Htr1a* в гиппокампе (см. табл. 2), ранее зафиксировано увеличение уровня белка 5НТ1AR у агрессивной линии [27], что, вероятно, способствует подавлению чрезмерного синтеза и активности NO вследствие активации 5-НТ1AR 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-НТ1A/5-НТ1B-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-

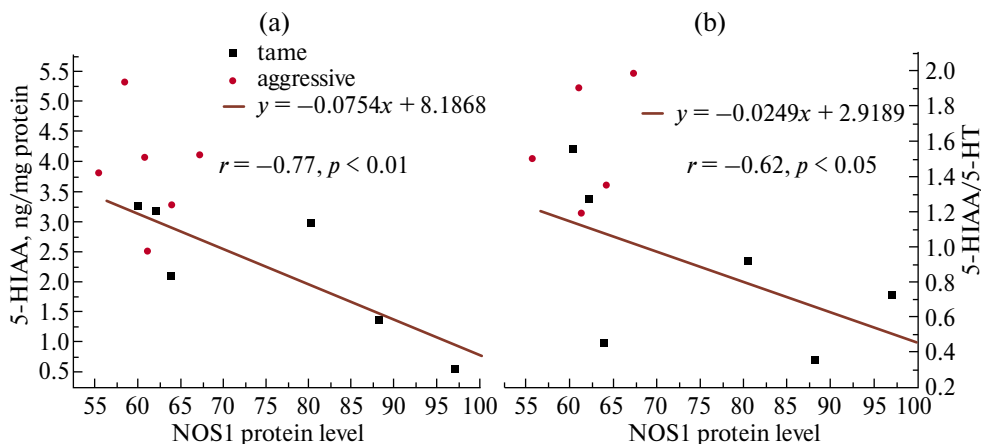
**Таблица 2.** Суммарные изменения 5-НТ-системы и ее модуляторов (NOS1 и TAAR1) у агрессивной линии крыс по сравнению с ручной

Параметр/структура	Средний мозг	Гиппокамп	Гипоталамус	Фронтальная кора
Trh2 мРНК	НД	НД	↓	НД
ТРН2	НД	НД	НД	НД
ТРН2-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-НТ	НД	↕	НД	НД
5-ГИУК	НД	↑	НД	↑
5-ГИУК/5-НТ	НД	НД	НД	↑

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

фиксировано повышение индекса метаболизма 5-НТ вследствие увеличения содержания основного метаболита 5-НТ, 5-ГИУК (см. табл. 2). При этом установленное здесь повышение уровня метаболизма 5-НТ, 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-НТ (5-ГИУК/5-НТ) 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 ТРН2, ни ее активности (зафиксирована лишь тенденция к повышению). Как известно, NOS1/NO/cGMP-система может оказывать влияние на экспрессию как ТРН2, так и MAO. Так, на нокаутных NOS1<sup>-/-</sup> мышам с повышенной агрессивностью выявлено увеличение экспрессии *Maoa* во фронтальной коре [49], что, по мнению авторов, является компенсаторным механизмом. В то же время экспрессия MAO-B 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 г-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 НЕК-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 мембранной и цитозольной формы в исследуемых структурах мозга (~39 кДа к 37 кДа). Преобладание мембранной

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 мембранной 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](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](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. *McCorry 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/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, Skrebuhhova-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, Plyushina 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, Whitten 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. *Ilchibaeva 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, Izyurov 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, Tsybko 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-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 201(2): 237–248.  
<https://doi.org/10.1007/s00213-008-1269-6>
49. Carreño Gutiérrez 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-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>7</sub> 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, Biebertmann 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<sup>a,\*</sup>, V. S. Moskaliuk<sup>a</sup>, D. V. Bazovkina<sup>a</sup>, R. V. Kozhemyakina<sup>a</sup>, and V. S. Naumenko<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

<sup>\*</sup>*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<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>7</sub> 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