

**ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ И БЛОКАДЫ НИТРЕРГИЧЕСКОЙ
НЕЙРОПЕРЕДАЧИ НА АКТИВНОСТЬ СЕРОТОНИНОВОЙ СИСТЕМЫ
МЕДИАЛЬНОЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫС**

© 2022 г. Н. Б. Саульская¹, *, М. А. Бурмакина¹, Н. А. Трофимова¹

¹*Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук,
Санкт-Петербург, Россия*

**E-mail: saulskayanb@infran.ru*

Поступила в редакцию 29.12.2021 г.

После доработки 18.01.2022 г.

Принята к публикации 21.01.2022 г.

Оксид азота (NO) и серотонин играют важную роль в обеспечении функционирования медиальной префронтальной коры, но их взаимодействие исследовано мало. Целью работы было изучение влияний локальных нитрергических сигналов на активность серотониновой системы этой корковой области. На крысах-самцах линии Спрег-Доули методом прижизненного внутримозгового микродиализа показано, что введения в медиальную префронтальную кору донора NO диэтиламин ноноата (0.1, 0.5, 1 мМ) приводят к увеличению уровня внеклеточного серотонина в этой области, коррелирующему в первые 15 мин введения с концентрацией вводимого препарата. Введение диэтиламин ноноата в концентрации 2.5 мМ снижало этот показатель. Инфузия в медиальную префронтальную кору ингибитора NO-синтазы *N*-нитро-*L*-аргинина (0.5 мМ) уменьшала фоновый уровень внеклеточного серотонина в данной области коры, а также задерживала и ослабляла подъем этого показателя, вызываемый локальным введением селективного ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина (10 мкМ). Полученные данные свидетельствуют, что в медиальной префронтальной коре в состоянии спокойного бодрствования тонические эндогенные нитрергические сигналы, а также их умеренное фармакологическое усиление введениями донора NO оказывают активационные влияния на серотониновую систему этой области путем увеличения пула внеклеточного серотонина, а более значительная нитрергическая стимуляция действует противоположным образом.

Ключевые слова: медиальная префронтальная кора, прижизненный внутримозговой микродиализ, выброс серотонина, NO-серотониновое взаимодействие

DOI: 10.31857/S0869813922030086

Газообразный межклеточный мессенджер оксид азота (NO), продуцируемый живыми организмами в ряду от бактерий до млекопитающих, играет важную роль в регуляции многих физиологических и патологических процессов, включая нейрогенез, нейротрансмиссию, модуляцию болевой чувствительности, сердечно-сосудистый гомеостаз, обучение, нейродегенерацию, воспаление и др. [1]. Нейроны, экспрессирующие нейронную изоформу NO-синтазы (nNOS – фермент, катализирующий образование NO из аргинина [2]), широко распространены в ЦНС [3]. У крыс высокая плотность иммунореактивности к nNOS выявлена в серотонинергических ядрах шва и средняя плотность – в иннервируемых этими ядрами обла-

стях мозга, включая медиальную префронтальную кору (мПК) [3], что создает предпосылки для NO-серотонинового взаимодействия. В соответствии с этим показано участие NO в регуляции синтеза, выброса, метаболизма и обратного захвата серотонина в ЦНС [4, 5]. В частности, в экспериментах *in vivo* (микродиализ, push-pull канюльная соперфузия) установлено, что NO регулирует высвобождение серотонина в ряде отделов мозга, причем, знак таких влияний варьирует от структуры к структуре и зависит от концентрации NO [4]. Ранее мы продемонстрировали, что в мПК локальные нитрические сигналы тоже могут оказывать влияние на активность серотониновой системы этой области, поскольку введение в мПК донора NO диэтиламин ноноата (DEA, 1 мМ) приводит к кратковременному подъему в ней уровня внеклеточного серотонина [6]. Вместе с тем, остается не выясненным, является ли такой эффект экзогенной нитрической стимуляции мПК дозозависимым, а значит, физиологически релевантным, нет сведений, участвуют ли эндогенные нитрические сигналы мПК в регуляции активности серотониновой системы этой корковой области. Настоящая работа посвящена выяснению этих вопросов. С этой целью, во-первых, исследованы влияния нитрической стимуляции мПК локальными введениями донора NO DEA в широком диапазоне концентраций (0.1–2.5 мМ) на уровень внеклеточного серотонина в этой области коры. Во-вторых, изучены эффекты введения в мПК ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинина (блокирующего образование эндогенного NO) на фоновый уровень внеклеточного серотонина в мПК и на его увеличение, вызываемое локальной блокадой обратного захвата серотонина. Таких сведений в литературе нет. Актуальность этих исследований определяется важной ролью мПК в регуляции физиологических функций в норме и при психопатологии [7] и все возрастающим объемом сведений о вкладе в такую регуляцию как серотонинергических [8], так и нитрических [9] механизмов мПК.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на самцах крыс линии Спрег-Доули (320–390 г) из биокolleкции “Colleкция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности” Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Животные этой линии характеризуются пониженным уровнем кортикостерона и гормонов щитовидной железы (Т3 и Т4) в крови по сравнению с крысами линии Вистар [10], что делает их более спокойными и удобными в работе в ходе длительных микродиализных экспериментов, проводимых нами без ограничений двигательной активности животного. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием крыс, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям комиссии по работе с животными Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Крыс содержали в условиях естественного светового режима и свободного доступа к воде и пище.

Крысам ($n = 31$) имплантировали диализные канюли в правую мПК. Детали имплантации опубликованы нами ранее [11]. Микродиализные эксперименты проводили через 2 дня после имплантации. Введения фармакологических препаратов осуществляли методом диализной инфузии, добавляя их в искусственную спинномозговую жидкость (ИСМЖ), постоянно протекающую через диализную канюлю в ходе эксперимента. Смену растворов вводимых препаратов осуществляли переключением потока жидкости с одного канала диализного насоса на другой. Эксперимент состоял из нескольких этапов. Коротко, у животного, находящегося в дневной домашней клетке, в течение часа проводили диализную перфузию мПК ИСМЖ (1 мкл/мин) без сбора диализата (стабилизационный период). Затем собирали 5 фоновых порций диализата (каждая по 15 мин), после чего животных разде-

ляли на 4 группы. Крысам группы 1 ($n = 8$) в ИСМЖ добавляли донор NO – натриевую соль диэтиламин ноноата (DEA, “Sigma”, США) в концентрации 0.1 мМ, а крысам группы 2 ($n = 8$) – DEA в концентрации 1 мМ и собирали по 4 пятнадцатиминутных порции диализата. После этого с животными группы 2 эксперименты завершали, а крысам группы 1 продолжали вводить DEA в мПК сначала в концентрации 0.5 мМ, затем в концентрации 2.5 мМ (по 1 ч каждая концентрация). Животным группы 3 ($n = 9$) после сбора фоновых порций диализата в ИСМЖ для перфузии мПК добавляли селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин (FLU, 10 мкМ), после чего собирали 5 порций диализата. Крысам группы 4 ($n = 6$) после сбора фоновых порций диализата в ИСМЖ добавляли сначала ингибитор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин (NA, 0.5 мМ), а через 75 мин этот раствор заменяли на смесь 0.5 мМ NA и 10 мкМ FLU. Через 75 мин диализную перфузию завершали. Диализат собирали каждые 15 мин и немедленно анализировали в течение всего периода эксперимента.

Содержание серотонина в диализате мПК исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией, как было описано ранее [12]. Уровень серотонина в образцах диализата представляли сначала в нМ/л, а затем – в процентах к собственному среднему фоновому уровню. По завершении экспериментов животных забивали [см. 6] и извлекали мозг для последующего морфологического контроля. Критерием отбора животного для статистической обработки была локализация диализного участка канюли в мПК.

Для статистической обработки использовали пакет SigmaStat (3.0). Данные представляли как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Изменения уровня внеклеточного серотонина относительно фона оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа (фактор – время; F -критерий) с апостериорным анализом (post hoc) по t -критерию Бонферрони. Для сравнения эффектов разных концентраций DEA на уровень внеклеточного серотонина применяли однофакторный дисперсионный анализ (фактор – концентрация; F -критерий) и анализ post hoc по t -критерию Бонферрони. Для межгруппового сравнения использовали двухфакторный дисперсионный анализ (факторы – группа и время, F -критерий) в сочетании с анализом post hoc по t -критерию Бонферрони. Коэффициент корреляции вычисляли по методу Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Величины фонового уровня внеклеточного серотонина в диализате мПК животных экспериментальных групп были следующими: группа 1 – 0.23 ± 0.01 нМ ($n = 8$); группа 2 – 0.24 ± 0.03 нМ ($n = 8$), группа 3 – 0.24 ± 0.02 нМ ($n = 9$); группа 4 – 0.21 ± 0.01 нМ ($n = 6$), что близко к ранее опубликованным результатам [12]. Не было выявлено межгрупповых различий по этому показателю ($F_{(3, 27)} = 0.4, p = 0.8$).

Диализная инфузия в мПК животных группы 1 0.1 мМ DEA вызывала подъем уровня внеклеточного серотонина в мПК по отношению к фону перед введением (рис. 1а; $F_{(8, 56)} = 15.2, p < 0.001$) с максимумом $126 \pm 5\%$ через 45 мин после начала введения. Увеличение концентрации DEA до 0.5 мМ также характеризовалось ростом уровня серотонина в этой области (рис. 1а; $F_{(8, 56)} = 8.9, p < 0.001$). Причем максимальный подъем ($135 \pm 8\%$) имел место через 30 мин после начала введения этой дозы DEA. Дальнейшее увеличение концентрации DEA до 2.5 мМ, напротив, снижало уровень серотонина в мПК (рис. 1а; $F_{(8, 56)} = 5.1, p < 0.001$). Однофакторный дисперсионный анализ выявил значимое влияние концентрации DEA (рис. 1б; $F_{(3, 124)} = 51.4, p < 0.001$) на уровень внеклеточного серотонина в мПК крыс группы 1. По данным post hoc анализа, средние (за час введения) уровни внеклеточного серотонина в мПК при введениях 0.1 мМ DEA и 0.5 мМ DEA превыша-

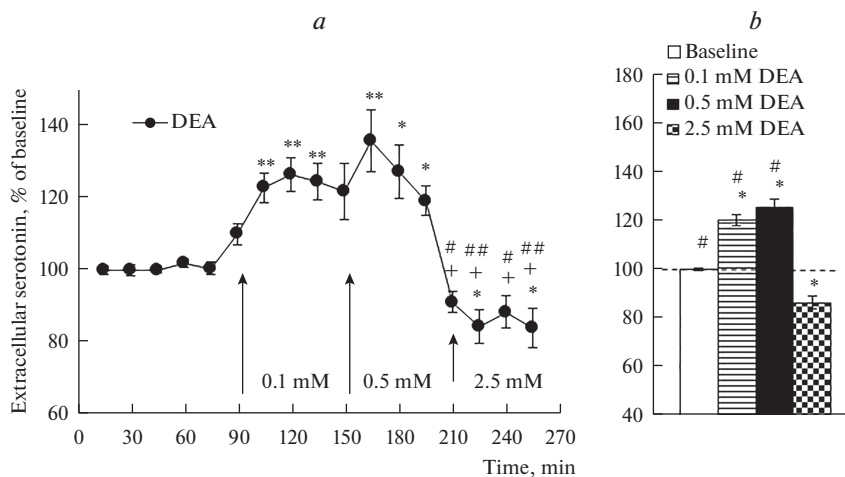


Рис. 1. (а) – изменения уровня внеклеточного серотонина в мПК при введении в эту область диэтил-амин нооата (DEA) в концентрациях 0.1, 0.5 и 2.5 мМ; (б) – средний (за весь период введения) уровень внеклеточного серотонина в мПК при введении каждой концентрации DEA. По оси X – время, мин; по оси Y – уровень серотонина, % к фону; разброс на графике и диаграмме – ошибка среднего; черные стрелки – начало введения разных концентраций DEA. (а) * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; + – $p < 0.001$ – при сравнении с введением 0.1 мМ DEA; # – $p < 0.01$, ## – $p < 0.001$ – при сравнении с введением 0.5 мМ DEA. (б) * – $p < 0.001$; # – $p < 0.001$ – при сравнении с введением 2.5 мМ DEA.

ли фоновые значения ($t = 5.7, p < 0.001$; $t = 7.1, p < 0.001$ соответственно), а уровень серотонина при введении 2.5 мМ DEA был ниже, чем этот показатель в фоне ($t = 3.8, p < 0.001$) и при введениях 0.1 мМ DEA ($t = 9.4, p < 0.001$) и 0.5 мМ DEA ($t = 10.9, p < 0.001$). Не было обнаружено значимых различий между средними (за час введения) подъемами уровня внеклеточного серотонина в мПК, вызываемыми введениями 0.1 мМ DEA и 0.5 мМ DEA ($t = 1.4, p = 0.9$).

Введение в мПК крыс группы 2 1 мМ DEA приводило к росту уровня внеклеточного серотонина в этой области (рис. 2; $F_{(8, 56)} = 13.6, p < 0.001$) с максимальным подъемом $139 \pm 8\%$ в первые 15 мин введения. После этого наблюдалось постепенное возвращение уровня серотонина мПК к фоновым показателям, что соответствует нашим прежним результатам [6]. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил значимые различия между изменениями уровня внеклеточного серотонина в мПК, вызываемыми введениями 0.1 мМ DEA (группа 1) и 1 мМ DEA (группа 2) (рис. 1а; $F_{(8, 126)} = 7.6, p < 0.001$). По данным post hoc анализа, введение в мПК 1 мМ DEA крысам группы 2 вызывало в первые 15 мин введения подъем уровня внеклеточного серотонина в мПК, превышающий этот показатель крыс группы 1 при введении им 0.1 мМ DEA (рис. 2; $t = 5.9, p < 0.001$). Вместе с тем, на 45-й и 60-й минутах введения уровень серотонина крыс группы 1 при введении 0.1 мМ DEA превышал этот показатель крыс группы 2 с введением 1 мМ DEA ($t = 2.9, p = 0.004$; $t = 4.1, p < 0.001$ соответственно).

Сводный анализ (по группам 1 и 2) изменений уровня внеклеточного серотонина в мПК в первые 15 мин введений DEA в концентрациях 0.1, 0.5, 1, 2.5 мМ показал, что в этом временном интервале концентрация DEA значимо влияет на уровень серотонина в мПК с максимальным подъемом при введениях 1 мМ DEA (рис. 3а; $F_{(4, 35)} = 11.2, p < 0.001$). Корреляционный анализ продемонстрировал,

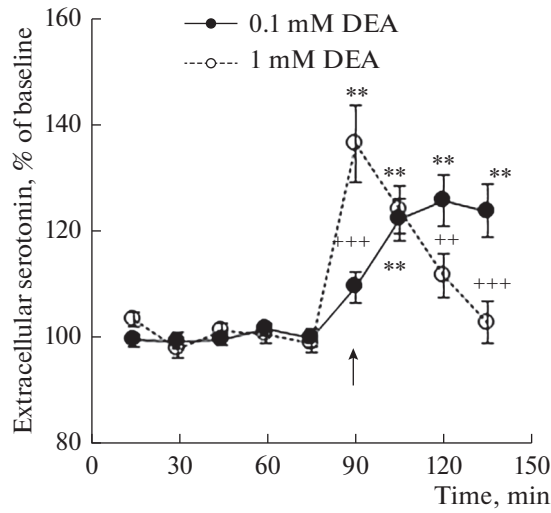


Рис. 2. Изменения уровня внеклеточного серотонина в мПК крыс с введениями в мПК 0.1 мМ DEA (группа 1) и 1 мМ DEA (группа 2). Черная стрелка – начало введения DEA. ++ – $p < 0.01$; +++ – $p < 0.001$ – при межгрупповом сравнении. Остальные обозначения, как на рис. 1а.

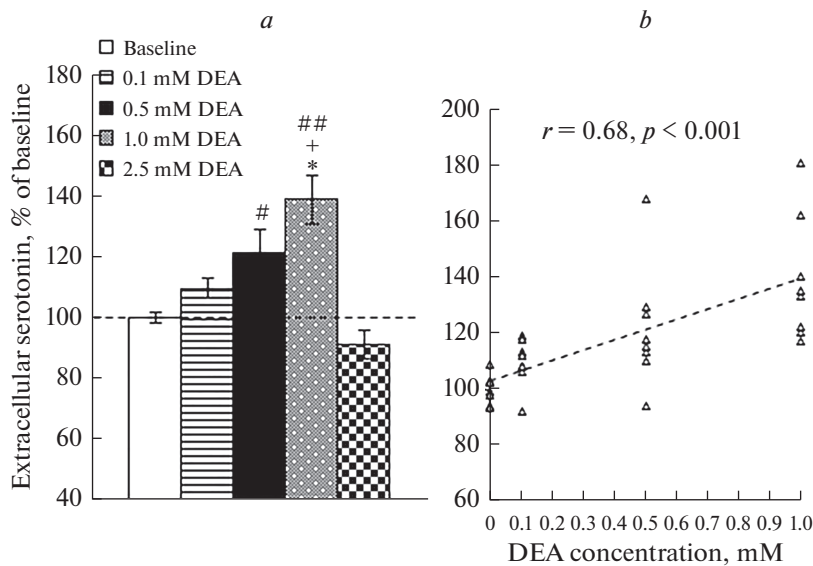


Рис. 3. (а) – уровень внеклеточного серотонина в мПК крыс групп 1 и 2 в первые 15 мин введения каждой концентрации DEA. * – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; + – $p < 0.01$ – при сравнении с введением 0.1 мМ DEA; # – $p < 0.01$, ## – $p < 0.001$ – при сравнении с введением 2.5 мМ DEA; (б) – корреляция уровня внеклеточного серотонина в мПК и концентрации вводимого DEA (0.1–1 мМ). По оси Y – концентрация вводимого DEA. r – коэффициент корреляции. Остальные обозначения, как на рис. 1а.

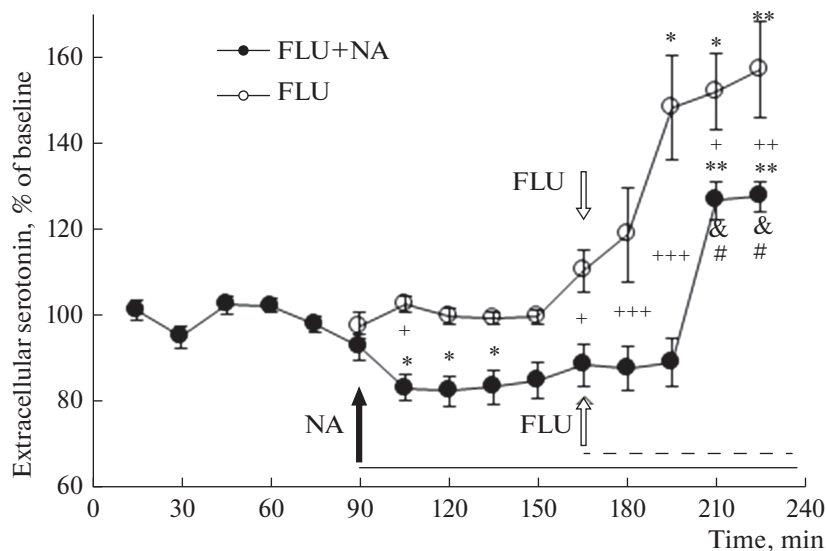


Рис. 4. Влияние введения в мПК 0.5 мМ NA на фоновый уровень внеклеточного серотонина, а также на его изменения, вызываемые введением в мПК 10 мкМ FLU. FLU – крысы группы 3 с введением в мПК FLU. FLU + NA – крысы группы 4 с введением в мПК FLU на фоне введения NA. Черная стрелка – начало введения NA крысам группы 4 (FLU + NA). Белые стрелки – начало введения FLU крысам группы 3 (FLU) и на фоне введения NA крысам группы 4 (FLU + NA). Сплошная горизонтальная линия – период введения NA крысам группы 4 (FLU + NA), пунктирная горизонтальная линия – период введения FLU изолированно крысам группы 3 (FLU) или на фоне введения NA крысам группы 4 (FLU + NA). * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$ – при сравнении с фоном; +- $p < 0.05$; ++ – $p < 0.01$; +++ – $p < 0.001$ – при межгрупповом сравнении. & – $p < 0.001$ – при сравнении с уровнем серотонина перед введением FLU + NA. # – $p < 0.001$ – при сравнении с уровнем серотонина в первые 45 мин после начала введения FLU+NA. Остальные обозначения, как на рис. 1а.

что в первые 15 мин введения DEA в концентрациях 0.1, 0.5 и 1 этот препарат дозозависимо увеличивал уровень внеклеточного серотонина в мПК (рис. 3b; $r = 0.68$, $p < 0.001$, $n = 32$).

Введение в мПК крыс группы 3 ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина (FLU, 10 мкМ) сопровождалось ростом уровня внеклеточного серотонина в мПК относительно собственного фона, который становился достоверным через 45 мин введения, с максимумом $157 \pm 11\%$ (рис. 4; $F_{(9, 72)} = 13.4$, $p < 0.001$). Введение в мПК животных группы 4 ингибитора NO-синтазы *N*-нитро-*L*-аргинина (NA, 0.5 мМ), напротив, снижало уровень внеклеточного серотонина в этой области относительно фона перед введением (рис. 4; $F_{(9, 45)} = 8.8$, $p < 0.001$). Введение в мПК животным группы 4 FLU (10 мкМ) на фоне предварительного введения NA (0.5 мМ) вызывало подъем уровня внеклеточного серотонина в мПК (максимум $127 \pm 4\%$), наблюдаемый с 60-й мин введения FLU (рис. 4; $F_{(14, 70)} = 17.7$, $p < 0.001$). По результатам двухфакторного дисперсионного анализа животные с введением FLU на фоне введения NA (группа 4) демонстрировали меньший по амплитуде и запаздывающий по времени подъем уровня внеклеточного серотонина мПК по сравнению с крысами группы 3, подвергавшимися изолированному введению FLU ($F_{(9, 130)} = 2.4$, $p = 0.02$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

мПК является важным интегративным центром, координирующим активность моторных, висцеральных, мотивационных, эмоциональных систем мозга и обеспечивающим перестройку их работы с учетом изменяющихся обстоятельств [7, 8, 13]. Нарушение нормального функционирования мПК наблюдается при хроническом стрессе [14] и при психопатологии (шизофрения, депрессия, аддикция) [13]. Большое влияние на работу этой области оказывают нитрергические сигналы, модулирующие нейронную активность, возбудимость и синаптическую пластичность [9, 15]. Источниками NO в мПК являются nNOS-содержащие ГАМКергические интернейроны [9], а также иннервирующие мПК отростки аксонов серотониновых нейронов ядер шва, в 80% которых выявлена иммунореактивность к nNOS [16].

Одной из важных функций NO является регуляция баланса синаптического выброса и обратного захвата нейромедиаторов [15, 17, 18], что отражается в уровне внеклеточных нейромедиаторов и их доступности для рецепторов. Так, для мПК показано дозозависимое увеличение уровня внеклеточного глутамата в ответ на локальные введения донора NO S-нитрозо-N-пеницилламина (0.5–5 мМ) [19]. Ранее мы продемонстрировали, что донор NO DEA при его введении в мПК в концентрации 1 мМ приводит к кратковременному подъему уровня внеклеточного серотонина в этой области с последующим снижением этого показателя [6]. В настоящей работе установлена дозозависимость стимулирующего действия такой экзогенной нитрергической активации на уровень внеклеточного серотонина в мПК в диапазоне концентраций DEA 0.1–1 мМ. Обнаруженный эффект, возможно, связан с торможением под действием NO обратного захвата серотонина в мПК, поскольку показано, что доноры NO дозозависимо уменьшают захват [³H]-серотонина синапсосомами коры [20], а генный нокаут nNOS, напротив, увеличивает скорость захвата серотонина (V_{max}) и мембранную плотность его транспортеров в синапсосомах целого мозга [21]. Кроме того, NO может стимулировать процесс экзоцитоза через активацию растворимой гуанилатциклазы (sGC), одной из основных мишеней NO [2], что также может способствовать показанному в работе росту уровня внеклеточного серотонина в мПК при введениях DEA (0.1–1 мМ). Ранее с использованием аналогичного методического подхода было продемонстрировано участие такого sGC-зависимого механизма в усилении высвобождения серотонина в стриатуме крысы [22].

С другой стороны, NO может тормозить выброс нейромедиаторов за счет S-нитрозилирования комплекса, цитозольного белка, участвующего в экзоцитозе [17]. Поскольку для S-нитрозилирования требуются более высокие концентрации NO по сравнению с NO-зависимой активацией sGC [15], можно предположить, что наблюдаемое в работе снижение уровня внеклеточного серотонина в мПК при введении в эту область DEA в максимальной концентрации (2.5 мМ) опосредовано таким механизмом действия NO. Ранее sGC-независимые тормозные эффекты NO на высвобождение серотонина были продемонстрированы в вентральном гиппокампе [23]. Еще одной возможной причиной снижения уровня внеклеточного серотонина в мПК при введении 2.5 мМ DEA может быть вызываемая S-нитрозилированием десенситизация sGC [24] в ходе предварительного введения DEA в меньших концентрациях. Косвенным подтверждением такой возможности является продемонстрированное нами ранее перерастание активационного действия 1 мМ DEA на высвобождение серотонина в мПК в тормозное при длительном введении этого препарата [6].

Значимым результатом работы являются данные, свидетельствующие, что серотониновая система мПК находится под тоническими активационными влияниями эндогенного NO, поскольку устранение таких влияний локальным введением ин-

гибитора NO-синтазы NA (0.5 мМ) снижало уровень внеклеточного серотонина в этой области. Более того, введение NA ослабляло эффективность блокады обратного захвата серотонина в мПК, задерживая и уменьшая подъем уровня внеклеточного серотонина, вызываемый локальным введением флуоксетина (10мМ). Этот эффект NA, показанный нами *in vivo*, возможно, связан с усилением захвата серотонина в мПК в результате недостатка NO, поскольку такая закономерность была продемонстрирована ранее на синапсосомах целого мозга мышей с генным нокаутом nNOS [21]. Результаты этих экспериментов впервые свидетельствуют об участии эндогенных нитрергических сигналов мПК в регуляции активности ее серотониновой системы через регуляцию уровня внеклеточного серотонина.

В целом, полученные в работе новые данные позволяют заключить, что в мПК крыс в состоянии спокойного бодрствования тонические эндогенные нитрергические сигналы, а также их умеренное фармакологическое усиление введениями донора NO оказывают активационные влияния на серотониновую систему этой области путем увеличения пула внеклеточного серотонина, а более значительная нитрергическая стимуляция действует противоположным образом.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Госпрограммы “Фундаментальные научные исследования для долгосрочного развития и обеспечения конкурентоспособности общества и государства” (47 110 ДРиОК, направление 63).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Н.Б.С.), сбор данных (М.А.Б., Н.А.Т., Н.Б.С.), обработка данных (Н.Б.С., М.А.Б.), написание манускрипта (Н.Б.С., М.А.Б., Н.А.Т.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Porrini C, Ramarao N, Tran SL* (2020) Dr. NO and Mr. Toxic – the versatile role of nitric oxide. *Biol Chem* 401: 547–572.
<https://doi.org/10.1515/hsz-2019-0368>
2. *Garthwaite J* (2019) NO as a multimodal transmitter in the brain: discovery and current status. *Br J Pharmacol* 176: 197–211.
<https://doi.org/10.1111/bph.14532>
3. *Chong PS, Poon CH, Fung ML, Guan L, Steinbusch HWM, Chan YS, Lim WL, Lim LW* (2019) Distribution of neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in adult male Sprague-Dawley rat brain. *Acta Histochem* 121: 151437.
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2019.08.004>
4. *Ghasemi M, Claunch J, Niu K* (2019) Pathologic role of nitrergic neurotransmission in mood disorders. *Prog Neurobiol* 173: 54–87.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.06.002>
5. *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>
6. *Saulskaya NB, Burmakina MA, Trofimova NA* (2021) Nitric oxide inhibits the functional activation of the medial prefrontal cortex serotonin system during fear formation and decreases fear generalization. *Neurochem J* 15: 266–272.
<https://doi.org/10.1134/s1819712421030107>
7. *Jacobs DS, Moghaddam B* (2021) Medial prefrontal cortex encoding of stress and anxiety. *Int Rev Neurobiol*. 158: 29–55.
<https://doi.org/10.1016/bs.irn.2020.11.014>

8. *Pastor V, Medina JH* (2021) Medial prefrontal cortical control of reward- and aversion-based behavioral output: Bottom-up modulation *Eur J Neurosci* 53: 3039–3062.
<https://doi.org/10.1111/ejn.15168>
9. *Liang HY, Chen ZJ, Xiao H, Lin YH, Hu YY, Chang L, Wu HY, Wang P, Lu W, Zhu DY, Luo CX* (2020) nNOS-expressing neurons in the vmPFC transform pPVT-derived chronic pain signals into anxiety behaviors. *Nat Commun* 11: 2501.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-16198-5>
10. *Kühn ER, Bellon K, Huybrechts L, Heyns W* (1983) Endocrine differences between the Wistar and Sprague-Dawley laboratory rat: influence of cold adaptation. *Horm Metab Res* 15: 491–498.
<https://doi.org/10.1055/s-2007-1018767>
11. *Saulskaya NB, Sudorgina PV* (2016) Activity of the nitrenergic system of the medial prefrontal cortex in rats with high and low levels of generalization of a conditioned reflex fear reaction. *Neurosci Behav Physiol* 46: 964–970.
<https://doi.org/10.1007/s11055-016-0338-2>
12. *Saulskaya NB, Marchuk OE* (2020) Inhibition of serotonin reuptake in the medial prefrontal cortex during acquisition of a conditioned reflex fear reaction promotes formation of generalized fear. *Neurosci Behav Physiol* 50: 432–438.
<https://doi.org/10.1007/s11055-020-00918-x>
13. *Riga D, Motos MR, Glas A, Smit AB, Spijker S, Van den Oever MC* (2014) Optogenetic dissection of medial prefrontal cortex circuitry. *Front Systemic Neurosci* 8: 230.
<https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00230>
14. *Woo E, Sansing LH, Arnsten AFT, Datta D* (2021) Chronic stress weakens connectivity in the prefrontal cortex: architectural and molecular changes. *Chronic Stress* 5: 1–22.
<https://doi.org/10.1177/24705470211029254>
15. *Hardingham N, Dachtler J, Fox K* (2013) The role of nitric oxide in pre-synaptic plasticity and homeostasis. *Front Cell Neurosci* 7: 190.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00190>
16. *Lu Y, Simpson KL, Weaver KJ, Lin RC* (2010) Coexpression of serotonin and nitric oxide in the raphe complex: cortical versus subcortical circuit. *Anat Rec Hoboken* 293: 1954–1965.
<https://doi.org/10.1002/ar.21222>
17. *Robinson SW, Bourgognon JM, Spiers JG, Breda C, Campesan S, Butcher A, Mallucci GR, Dinsdale D, Morone N, Mistry R., Smith TM, Guerra-Martin M, Challiss RAJ, Giorgini F, Steinert JR* (2018) Nitric oxide-mediated posttranslational modifications control neurotransmitter release by modulating complexin farnesylation and enhancing its clamping ability. *PLoS Biol* 16: e2003611.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003611>
18. *Garthwaite J* (2007) Neuronal nitric oxide synthase and the serotonin transporter get harmonious. *PNAS* 104: 7739–7740.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0702508104>
19. *Roenker NL, Gudelsky GA, Ahlbrant R, Horn PS, Richtand NM* (2012) Evidence for involvement of nitric oxide and GABA_B receptors in MK-801 – stimulated release of glutamate in rat prefrontal cortex. *Neuropharmacology* 63: 575–581.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.04.032>
20. *Asano S, Matsuda T, Nakasu Y, Maeda S, Nogi H, Baba A* (1997) Inhibition by nitric oxide of the uptake of [³H]serotonin into rat brain synaptosomes. *Jpn J Pharmacol* 75: 123–128.
[https://doi.org/10.1016/S0021-5198\(19\)31323-X](https://doi.org/10.1016/S0021-5198(19)31323-X)
21. *Chanrion B, Mannoury la Cour C, Bertaso F, Lerner-Natoli M, Freissmuth M, Millan MJ, Bockaert J, Marin P* (2007) Physical interaction between the serotonin transporter and neuronal nitric oxide synthase underlies reciprocal modulation of their activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 8119–8124.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0610964104>
22. *Guevara-Guzman R, Emson PC, Kendrick KM* (1994) Modulation of in vivo striatal transmitter release by nitric oxide and cyclic GMP. *J Neurochem* 62: 807–810.
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.62020807.x>
23. *Wegener G, Volke V, Rosenberg R* (2000) Endogenous nitric oxide decreases hippocampal levels of serotonin and dopamine in vivo. *Br J Pharmacol* 130: 575–580.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703349>
24. *Sayed N, Baskaran P, Ma X, van den Akker F, Beuve A* (2007) Desensitization of soluble guanylyl cyclase, the NO receptor, by S-nitrosylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 12312–12317.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0703944104>

**Effect of Activation and Blockade of Nitrgic Neurotransmission
on Serotonin System Activity of the Rat Medial Prefrontal Cortex**

N. B. Saulskaya^a*, M. A. Burmakina^a, and N. A. Trofimova^a

^a*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia*

**e-mail: saulskayanb@infran.ru*

NO and serotonin play an important role in the functioning of the medial prefrontal cortex, but their interaction has been little studied. The aim of this work was to study the effects of local nitrgic signals on the activity of the serotonin system in this cortical area. In male Spreg-Dawley rats by means of *in vivo* microdialysis we showed that the infusion of diethylamine nonoate (0.1, 0.5, 1 mM), an NO donor, into the medial prefrontal cortex resulted in an increase in the extracellular serotonin levels, which correlates with the drug concentration during the first 15 min of the infusion. Diethylamine nonoate at a concentration of 2.5 mM reduced the extracellular serotonin levels. Infusion into the medial prefrontal cortex of N-nitro-L-arginine (0.5 mM), an NO synthase inhibitor, decreased the basal extracellular serotonin level in this area, and delayed and weakened the serotonin level rise caused by the local administration of the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine (10 μ M). The data obtained indicate that in the medial prefrontal cortex in a state of calm wakefulness, tonic endogenous nitrgic signals, as well as their moderate pharmacological enhancement by the administration of the NO donor activates the serotonin system of this area by increasing the extracellular serotonin level, while more significant nitrgic stimulation acts in the opposite way.

Keywords: medial prefrontal cortex, *in vivo* intracranial microdialysis, serotonin release, NO-serotonin interaction