

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Дифференциальная экспрессия 10 генов, ассоциированных с агрессивным поведением, в гипоталамусе двух поколений крыс, селекционируемых по реакции на человека

Н.В. Климова, И.В. Чадаева , С.Г. Шихевич, Р.В. Кожемякина


Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
 ichadaeva@bionet.nsc.ru

Аннотация. Индивидуальные особенности поведения у особей одного вида обусловлены взаимодействием генотипа и социального опыта. Как у любого типа поведения, фенотипическое проявление паттернов агрессивного поведения зависит от согласованной экспрессии целых ансамблей генов. Однако идентификация этих генов и комбинаций их взаимного влияния на экспрессию остается сложной задачей. С целью выявления наиболее значимых для осуществления агрессивных реакций генов нами на модельных животных – серых крысах, селекционируемых по реакции на человека (линии ручных и агрессивных крыс), была проведена оценка уровня экспрессии выбранных на основе литературных данных десяти генов (*Cacna1b*, *Cacna2d3*, *Drd2*, *Egr1*, *Gad2*, *Gria2*, *Mapk1*, *Nos1*, *Pomc*, *Syn1*), которые ассоциированы с агрессивным поведением. Экспрессию генов оценивали методом ПЦР в реальном времени в образцах гипоталамуса ручных и агрессивных серых крыс двух разных поколений (88-е и 90-е). В результате проведенного анализа экспрессии генов в гипоталамусе крыс, селекционируемых на ручное и агрессивное поведение, было обнаружено, что четыре из десяти исследуемых генов достоверно различаются по уровню экспрессии между крысами агрессивной и ручной линий 88-го и 90-го поколений разведения. Кроме того, показано, что экспрессия генов *Cacna1b*, *Drd2*, *Egr1* и *Gad2* не изменяется между двумя поколениями крыс одной и той же линии, но достоверно различается между линиями: у крыс ручной линии обоих поколений эти гены экспрессируются достоверно ниже по сравнению с агрессивной. Гены *Cacna1b*, *Drd2*, *Egr1* и *Gad2* являются наиболее перспективными для дальнейших исследований поведенческих особенностей крыс, селекционируемых по реакции на человека. Данный результат подтверждает полигенную детерминацию фенотипического проявления агрессивных реакций на примере модельных животных. Ключевые слова: агрессивное и ручное поведение; дифференциальная экспрессия генов; гипоталамус; крысы.

Для цитирования: Климова Н.В., Чадаева И.В., Шихевич С.Г., Кожемякина Р.В. Дифференциальная экспрессия 10 генов, ассоциированных с агрессивным поведением, в гипоталамусе двух поколений крыс, селекционируемых по реакции на человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(2):208-215. DOI 10.18699/VJ21.50-0

Differential expression of 10 genes in the hypothalamus of two generations of rats selected for a reaction to humans

N.V. Klimova, I.V. Chadaeva , S.G. Shichevich, R.V. Kozhemyakina

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
 ichadaeva@bionet.nsc.ru

Abstract. Individual behavioral differences are due to an interaction of the genotype and the environment. Phenotypic manifestation of aggressive behavior depends on the coordinated expression of gene ensembles. Nonetheless, the identification of these genes and of combinations of their mutual influence on expression remains a difficult task. Using animal models of aggressive behavior (gray rats that were selected for a reaction to humans; tame and aggressive rat strains), we evaluated the expression of 10 genes potentially associated with aggressiveness according to the literature: *Cacna1b*, *Cacna2d3*, *Drd2*, *Egr1*, *Gad2*, *Gria2*, *Mapk1*, *Nos1*, *Pomc*, and *Syn1*. To identify the genes most important for the manifestation of aggressiveness, we analyzed the expression of these genes in two generations of rats: 88th and 90th. Assessment of gene expression levels was carried out by real-time PCR in the hypothalamus of tame and aggressive rats. This analysis confirmed that 4 out of the 10 genes differ in expression levels between aggressive rats and tame rats in both generations. Specifically, it was shown that the expression of the *Cacna1b*, *Drd2*, *Egr1*, and *Gad2* genes does not differ between the two generations (88th vs 90th) within each strain, but significantly differs between the strains: in the tame rats of both generations, the expression levels of these genes are significantly lower as compared to those in the aggressive rats. Therefore, these genes hold promise for further studies on behavioral characteristics. Thus, we confirmed polygenic causes of phenotypic manifestation of aggressive reactions. Key words: aggressive behavior; tame behavior; gene expression; hypothalamus; rats.

For citation: Klimova N.V., Chadaeva I.V., Shichevich S.G., Kozhemyakina R.V. Differential expression of 10 genes in the hypothalamus of two generations of rats selected for a reaction to humans. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(2):208-215. DOI 10.18699/VJ21.50-0

Введение

Индивидуальные особенности поведения у особей одного вида обусловлены взаимодействием генотипа и социального опыта (Lindenfors, Tullberg, 2011; Anholt, Mackay, 2012; Кудрявцева и др., 2014; Маркель, 2016). При этом идентификация генов, ассоциированных с конкретным типом поведения, и комбинаций их взаимного влияния друг на друга является сложной задачей. Изучение агрессивного поведения и его генетической детерминации (т. е. регуляция агрессивных реакций) требует проведения экспериментов на модельных животных, контрастных по какому-либо из параметров агрессивности, с тем чтобы можно было адекватно оценить фенотипические проявления агрессивности в заданных и контролируемых исследователями условиях (VanOortmerssen, Bakker, 1981; Кудрявцева и др., 2014). Экспериментальные работы на модельных животных позволяют выявить гены-ортологи, ассоциированные с агрессивным поведением у разных видов, что необходимо для дальнейшего выявления эволюционных закономерностей в детерминации агрессивности генетическими факторами у животных.

Известно, что уровень агрессивности наследуется. Генетический контроль фенотипической вариации уровня агрессивности в популяциях животных был подтвержден экспериментально (VanOortmerssen, Bakker, 1981; Hudziak et al., 2003; Fairbanks et al., 2004; Saetre et al., 2006). Большая часть исследований посвящена изучению какого-либо одного конкретного гена, ассоциированного с агрессивным поведением. Например, работы по изучению дифференциальной экспрессии генов эстрогенового рецептора (Cushing, 2016), серотонинового рецептора (Науменко и др., 2009; Cervantes, Delville, 2009), дофаминового рецептора (Golden et al., 2019), генов *Maoa* (Chu et al., 2017), *Bdnf* (Ilchibaeva et al., 2015), *Nos1* (Wultsch et al., 2007) и других уже хорошо известных генов, связанных с агрессивностью.

Однако множество обзорных работ по генетике агрессивного поведения можно резюмировать утверждением о полигенной детерминации агрессивного поведения животных, т. е. фенотипическое проявление агрессивных реакций особи контролируется одновременной экспрессией многих генов, целых ансамблей генов (Craig, Halton, 2009; Anholt, Mackay, 2012; Pavlov et al., 2012; Кудрявцева и др., 2014; Маркель, 2016; Hoopfer, 2016).

У крыс ручной и агрессивной линий были проведены исследования экспрессии групп генов в полушариях самцов и самок (Albert et al., 2012), что несколько затрудняет корректную интерпретацию результатов, поскольку известен эффект полового цикла на всю жизнедеятельность женского организма. В другой работе дифференциально экспрессирующиеся гены были выявлены у гибридных животных второго поколения, полученных в результате скрещивания ручных и агрессивных крыс (Heune et al., 2014). Безусловно, роль полушарий головного мозга в осуществлении высшей нервной деятельности ведущая. Однако поведение, в том числе агрессивное, контролируется в первую очередь гипоталамусом: известно, что электрическая стимуляция некоторых участков гипоталамуса приводит к проявлению агрессивного поведения (Kruk, 1991; Hrabovszky et al., 2005; Lin et al., 2011).

В нашей работе мы проанализировали уровни экспрессии 10 генов в гипоталамусе, которые, по данным литературы, ассоциированы с агрессивным поведением, на модельном объекте, проследив при этом стабильность экспрессии у двух поколений исследуемых животных. В качестве модельного объекта были использованы самцы двух аутбредных линий серых крыс, в одной из которых проводили селекцию на отсутствие (ручное поведение), а в другой – на усиление агрессивной реакции по отношению к человеку (агрессивное поведение) (Беляев, Бородин, 1985; Плюснина и др., 2007). В ответ на предъявление стимула – рука экспериментатора в толстой перчатке (тест «на перчатку» – glove test) – крысы ручной линии реагируют спокойно, подходят и обнюхивают, не совершая никаких агрессивных действий, а крысы агрессивной линии, напротив, реагируют очень бурно, сразу же нападая на раздражитель. Результаты исследований крыс ручной и агрессивной линий 60–70-х поколений разведения показали различия некоторых поведенческих реакций в тестах «открытое поле», водный тест Морриса, «крестообразный лабиринт», а также различия морфометрических показателей черепа и окраса шерсти (Плюснина и др., 2007; Кожемякина и др., 2016; Кожемякина, 2017).

Были проанализированы уровни экспрессии следующих 10 генов.

- 1, 2. Гены *Cacna1b* (calcium voltage-gated channel subunit alpha1B) и *Cacna2d3* (calcium voltage-gated channel auxiliary subunit alpha2delta3) кодируют субъединицы в составе высокопороговых кальциевых каналов, высвобождающих нейромедиаторы. Кальциевые каналы играют критическую роль в проявлении агрессивного поведения посредством синаптической передачи нейромедиаторов, ГАМК и серотонина (Kim C. et al., 2009).
3. *Drd2* (dopamine receptor D2) – ген дофаминового рецептора D2, участвующего в процессах мотивации и обучения; изменения уровня экспрессии гена *Drd2* приводят к различного рода патологиям, в числе которых повышенная агрессивность (Miczek et al., 2002; Kim V. et al., 2015).
4. Ген *Egr1* (early growth response 1) кодирует белок, активирующий транскрипцию генов, участвующих в процессах деления и дифференцировки клеток. *Egr1* является транскрипционным фактором, регулирующим экспрессию нескольких генов, которые связаны с долговременной памятью (Knapska, Kaczmarek, 2004). Известно, что экспрессия *Egr1* увеличивается в ответ на стрессовые воздействия (Knapska, Kaczmarek, 2004; Hodges et al., 2014), и, кроме того, самцы мышей, нокаутные по этому гену, не демонстрируют агрессивного поведения в присутствии чужака (Topilko et al., 1998).
5. Ген *Gad2* (glutamate decarboxylase 2) кодирует глутаматдекарбоксилазу, которая катализирует преобразование глутамата в ГАМК (нейромедиатор, ингибирующий нервные импульсы), и таким образом ген *Gad2* вовлечен в контроль эмоционального состояния экспериментальных животных, регулируя социальное, в том числе агрессивное, поведение (Stork et al., 2000). В частности, показано, что нокаутные мыши по гену *Gad2* имеют сниженные показатели по агрессивному поведению.

6. Ген *Gria2* (glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 2) кодирует субъединицу глутаматного рецептора – важнейшего участника в процессах возбуждения центральной нервной системы (ЦНС). При блокировании этого рецептора у наивных мышей снижается агрессивность по сравнению с однопометниками, у которых глутаматные рецепторы нормально функционируют (Vekovischeva et al., 2004).
7. Ген *Mapk1* (mitogen-activated protein kinase 1) кодирует митоген-активируемую протеинкиназу, которая играет сложную роль в клеточных процессах (контроль транскрипции генов, метаболизм, пролиферация и др.) в нейронах ЦНС. Мыши, условно нокаутные по данному гену, демонстрировали повышенную агрессивность (Satoh et al., 2011).
8. Ген *Nos1* (nitric oxide synthase 1) кодирует фермент (нейрональная синтаза оксида азота), который катализирует образование оксида азота и является важным участником нейротрансмиссии. Была выявлена роль гена *Nos1* в агрессивном поведении посредством взаимодействия синтазы оксида азота с переносчиком серотонина, что вызывает снижение поглощения серотонина (Nelson et al., 1995; Reif et al., 2009; Veroude et al., 2016) и приводит к снижению агрессивности (Kulikov et al., 2012).
9. *Pomc* (proopiomelanocortin) – это ген прогормона, проопиомеланокортина, который является предшественником адренокортикотропного гормона. Было показано, что меланокортин связан с агрессивным поведением (Værgøy et al., 2018). В частности, у агрессивных лисиц уровень экспрессии гена *Pomc* снижен по сравнению с ручными (Gulevich et al., 2004).
10. Ген *Syn1* (synapsin I) кодирует фосфопротеин, регулирующий на поверхности синаптических пузырьков процесс выброса нейромедиаторов в синапсах. В исследовании на крысах и мышах показано снижение уровня экспрессии гена *Syn1* при хроническом стрессе и ранней изоляции (Elizalde et al., 2010; Park et al., 2014), что обычно сопровождается изменением поведения в целом и агрессивности в частности.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Количество экспериментальных животных было определено и эксперименты на животных были проведены в соответствии с международными европейскими биоэтическими стандартами (Директива 2010/63/EU) и Руководством по уходу и использованию лабораторных животных, утвержденным Минздравом России (Приложение к приказу № 267 от 19 июня 2003 г.).

Работа выполнена на половозрелых самцах 88-го и 90-го поколения разведения двух аутбредных линий (ручная и агрессивная). В эксперимент было взято по три животных каждой линии 88-го поколения и по шесть животных – 90-го поколения. Чтобы исключить влияние фотопериода на физиологию и поведение экспериментальных животных, в работе были использованы крысы, рожденные в одно и то же время года. Согласно критерию отбора (реакция на человека в тесте «на перчатку») (Беляев, Бородин, 1985; Плюснина и др., 2007)), у селекцио-

нируемых агрессивных крыс агрессивно-оборонительная реакция соответствовала –3.5 балла. Для ручных крыс оценка поведения в тесте на перчатку соответствовала +3.5 балла, что является показателем высокой степени прирученности.

Выделение суммарной РНК и ПЦР в реальном времени. Образцы гипоталамуса были препарированы постмортально, собраны в жидком азоте и сохранены при температуре –70 °С до использования. Суммарную РНК из образцов головного мозга крыс выделяли с помощью TRIzol™ Reagent (Invitrogen, США). Количество выделенной РНК определяли с использованием флуориметра Invitrogen Qubit™ 2.0 (Invitrogen/Life Technologies, США). Очистку РНК выполняли с помощью парамагнитных частиц Agencourt RNAClean XP Kit (Beckman Coulter, США). Для удаления примесей геномной ДНК полученную суммарную РНК обрабатывали ДНКазой I (Thermo Fisher Scientific, США). Качество суммарной РНК определяли с помощью Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent, Санта-Клара, США).

кДНК синтезирована с использованием набора реагентов фирмы «Синтол» (Россия) согласно инструкции фирмы-производителя. Олигонуклеотидные праймеры для ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) подобраны с помощью PrimerBLAST (см. таблицу). ПЦР-РВ проведена для каждого образца в двух технических повторах на сенсорной системе CFX-96 (Bio-Rad, США) с набором EVA Green I («Синтол»), по инструкциям производителя. Эффективность амплификации для каждого праймера составляет 90–110 %. В качестве референсного использовали ген домашнего хозяйства *Rpl30*.

Статистическая обработка результатов ПЦР-РВ. Статистический анализ выполнен с использованием *t*-теста (критерий Стьюдента), а также факторного анализа (Multivariate Exploratory Techniques: Factor Analysis, Varimax, максимизация дисперсии) пакета StatSoft™ Toolsam USA Statistica 6.0. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. Различия между группами животных считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты

В результате экспериментальной верификации методом ПЦР-РВ в гипоталамусе крыс 88-го поколения были выявлены гены, дифференциально экспрессирующиеся у животных агрессивной и ручной линий. Так, у агрессивных крыс по сравнению с ручными достоверно выше уровни экспрессии генов *Cacna1b*, *Cacna2d3*, *Drd2*, *Egr1*, *Gad2*, *Gria2*, *Mapk1* и *Syn1* (*t*-тест, $p < 0.05$) (рис. 1). Экспрессия генов *Nos1* и *Pomc* ручных и агрессивных крыс 88-го поколения селекции по реакции на человека достоверно не различается.

Уровни экспрессии генов *Cacna1b*, *Drd2*, *Egr1* и *Gad2* в гипоталамусе агрессивных крыс 90-го поколения были достоверно выше, чем у ручных того же поколения ($p < 0.05$) (см. рис. 1). Достоверных различий в экспрессии генов *Cacna2d3*, *Gria2*, *Mapk1*, *Nos1*, *Pomc* и *Syn1* у этих же животных не установлено.

При анализе уровней мРНК в образцах гипоталамуса одних и тех же генов крыс 88-го и 90-го поколений обна-

Последовательности праймеров для ПЦР-РВ (5'→3')

Название гена	Прямой праймер	Обратный праймер
<i>Cacna1b</i>	CCCTGGTGGCATTTCGATTC	AGTTTAGGCAGCCGCTTGAT
<i>Cacna2d3</i>	TAAGCTGCGACGATGAGACTG	TGACAGCTCCTTCGACCTCA
<i>Drd2</i>	CTGGAAGCCTCGAGCAGC	TCTGCCTCTCCAGATCGTCA
<i>Egr1</i>	AACAACCCTACGAGCACCTG	AAAGGGGTTTCAGGCCACAAA
<i>Gad2</i>	GCTCATCGCATTACGTCAG	GGCACTACCAGGAAAGGAA
<i>Gria2</i>	GGACTACCGCAGAAGGAGTAG	AGGCCTTGTTTCATTAGTTTAGT
<i>Mapk1</i>	CAGGTTGTTCCCAAACGCTG	GAGCCCTTGCTCGACCAAT
<i>Nos1</i>	ACCCGACCTCAGAGACAAC	AAGCTTCTCCTGTCCGCAA
<i>Pomc</i>	CATCATCAAGAACGCGCACAA	TAAGCTAAGAGGCTGGAGGTCA
<i>Syn1</i>	TGCCAATGGTGGATTCTCCG	CAGCCCAATGACCAAACCTGC
<i>Rpl30</i>	ATGGTGGCTGCAAAGAAGAC	CAAAGCTGGACAGTTGTTGG

ружено, что экспрессия генов *Cacna1b*, *Drd2*, *Egr1* и *Gad2* у крыс ручной линии достоверно ниже по сравнению с агрессивной, независимо от поколения. Таким образом, эти гены перспективны для дальнейших исследований как определяющие поведенческий фенотип крыс в рамках проводимой селекции по реакции на человека.

Кроме того, по результатам факторного анализа объединенных данных по экспрессии генов у животных 88-го и 90-го поколений были выявлены только два достоверных фактора (рис. 2). Первый фактор достоверно коррелирует ($p < 0.05$, t -тест Стьюдента) с экспрессией четырех генов (*Cacna1b*, коэффициент линейной корреляции $r = 0.94$; *Drd2*, $r = 0.77$; *Egr1*, $r = 0.92$; *Gad2*, $r = 0.85$) и объясняет ту долю изменчивости (32 %) экспериментальных данных, которая соответствует различию между агрессивными и ручными крысами. Второй фактор достоверно коррелирует с экспрессией трех других генов (*Cacna2d3*, $r = 0.91$; *Gria2*, $r = 0.92$; *Mapk1*, $r = 0.93$) и указывает на внутригрупповую изменчивость (31 %), общую для агрессивных и ручных животных. Третий фактор объясняет 12 % изменчивости, но достоверной корреляции с экспрессией каких-либо анализируемых генов не обнаружено (данные не показаны).

Обсуждение

В результате анализа полученных нами с помощью ПЦР-РВ данных были выявлены четыре дифференциально экспрессирующихся гена (*Cacna1b*, *Drd2*, *Egr1*, *Gad2*) из 10 исследованных генов у ручных и агрессивных крыс двух поколений (88-е и 90-е поколение крыс, селекционируемых по реакции на человека). Уровень мРНК этих генов не различается у крыс разных поколений в пределах каждой из линий.

Ген *Cacna1b* кодирует белок Cav2.2, который является субъединицей высокопороговых кальциевых каналов, контролирующей высвобождение нейромедиаторов из нейронов. Данная субъединица регулирует прохождение ионов кальция, определяя тем самым свойства канала. Ген *Cacna1b* экспрессируется на низком уровне в мозге (Castiglioni et al., 2006), но кодируемая им субъединица кальциевого канала играет важную роль в ответной реакции организма при агрессивной стимуляции (Bunda et al., 2019). Кальциевые каналы способствуют высвобождению медиаторов в возбуждающих синапсах, что приводит к подавлению исследовательского поведения, с одной стороны, и тревожного поведения, вызванного новизной (Bunda et al., 2019), с другой. Однако, как показано

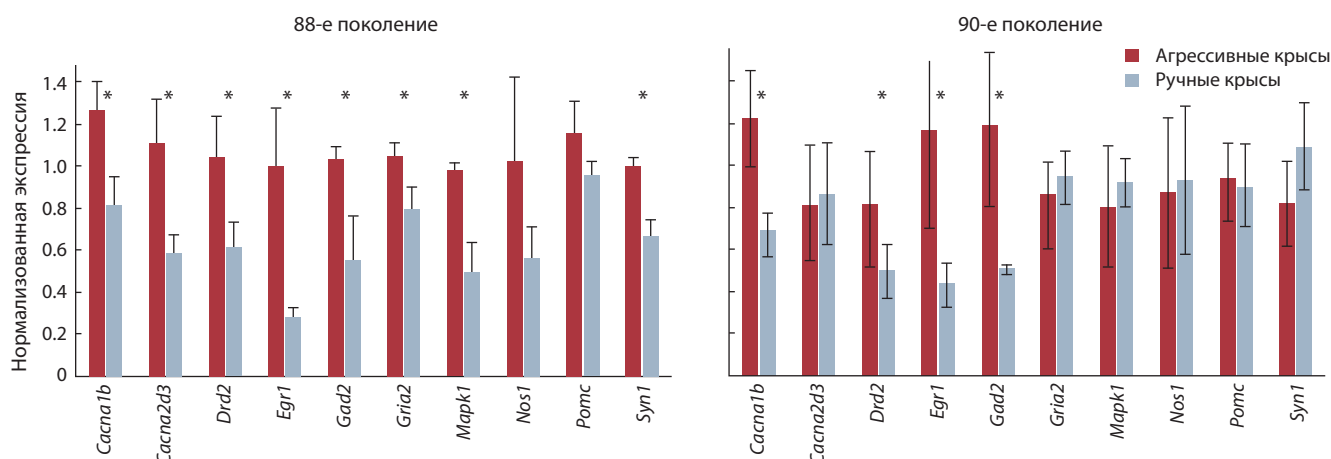


Рис. 1. Уровень мРНК исследуемых генов в гипоталамусе ручных и агрессивных крыс 88-го и 90-го поколений разведения. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего; * $p < 0.05$ – значимость межлинейных различий.

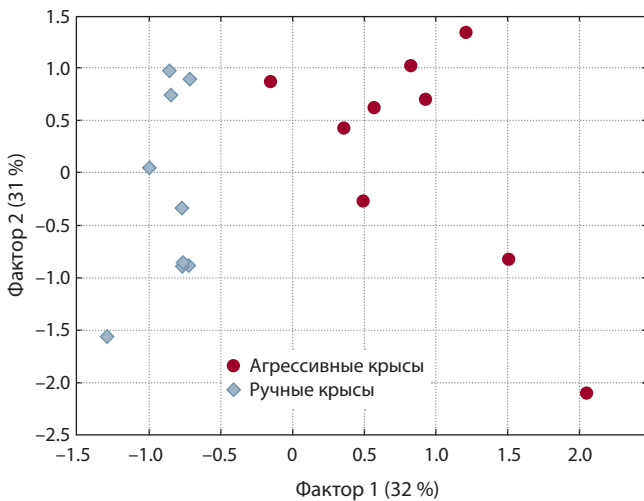


Рис. 2. Достоверные факторы генетической изменчивости экспрессии исследуемых генов у агрессивных и ручных крыс, выявленные методом Varimax при стандартных параметрах пакета Statistica 6.0.

на 74-м поколении селекционируемых по реакции на человека крыс, исследовательское поведение ручных и агрессивных крыс в тесте «открытое поле» практически не различается (Кожемякина и др., 2016). Соответственно, повышенный уровень экспрессии гена *Cacnalb* у агрессивных крыс по сравнению с ручными, вероятно, связан с различиями тревожного поведения в условиях новизны, что подтверждается в работе (Кожемякина и др., 2016). В частности, у крыс, селекционируемых на повышенную агрессивность, достоверно выше суммарная за 5 минут поведенческого теста двигательная активность, которая отражает уровень тревожности животного.

Полученный нами результат вступает в некоторое противоречие с работой, проведенной на нокаутных мышах, где было показано, что при отсутствии субъединиц кальциевого канала уровень агрессивности экспериментальных животных значительно повышался (Kim C. et al., 2009). Данное противоречие можно объяснить тем, что функционирование кальциевых каналов не напрямую связано с агрессивными реакциями животного, а опосредованно – через высвобождение нейромедиаторов, что, в зависимости от действия нейромедиатора, и определяет поведенческие реакции животного. Например, серотонин, который, как показано в многочисленных исследованиях, влияет на агрессивность (Raleigh et al., 1991; Olivier, 2010); при этом данные о корреляции между уровнем серотонина и агрессией противоречивы (de Boer, Kooolhaas, 2005). Хроническое и устойчивое высвобождение серотонина положительно связано как с нормальной агрессией (территориальные конфликты или установление социальной иерархии) (Raleigh et al., 1991; Audero et al., 2013), так и с патофизиологической агрессией, характерной для психиатрических пациентов (Zamponi, 2016). Таким образом, наша работа дополняет мировые данные о связи экспрессии гена *Cacnalb*, кодирующего субъединицу кальциевого канала, с агрессивным поведением.

Экспрессия гена *Drd2* (дофаминовый рецептор D2) ассоциирована с агрессивным поведением, что было пока-

зано в исследованиях на крысах (VanErp, Miczek, 2000) и на людях (Qadeer et al., 2017). Поскольку дофамин (эндогенный лиганд-агонист рецептора D2), как и серотонин, участвует в регуляции агрессивного поведения, то изменение экспрессии гена *Drd2* приводит к различного рода патологиям, например к повышенной агрессивности (VanErp, Miczek, 2000; Miczek et al., 2002; Kim V. et al., 2015; Golden et al., 2019). В то же время агрессивное взаимодействие стимулирует дофаминергическую и серотонинергическую активности в лимбических областях мозга (Summers, Winberg, 2006). Иными словами, активация нейронов гипоталамуса, приводящая к высвобождению дофамина, может, в свою очередь, способствовать возбуждению тех нейронов гипоталамуса, которые управляют атакой (Yamaguchi, Lin, 2018). В рамках нашей работы эти данные литературы указывают на то, что повышенный уровень экспрессии гена *Drd2* у крыс агрессивной линии обоих поколений может быть действительно связан с фенотипическим проявлением агрессивных реакций на человека.

Третий дифференциально экспрессирующийся ген у крыс с наследственно закрепленной реакцией на человека, *Egr1*, кодирует белок – фактор транскрипции, участвующий в активации транскрипции генов, необходимых для митогенеза и дифференцировки клеток. Известно, что транскрипционный фактор *Egr1* регулирует экспрессию генов, контролирующих синаптическую пластичность, процессы обучения и памяти, что делает его важным объектом исследований, направленных на понимание согласованности нейронных ответов на различные стимулы (Knapaska, Kaczmarek, 2004). Показано, что после стрессового воздействия уровень экспрессии гена *Egr1* у крыс повышается в неокортикальных областях, в том числе в гипоталамусе (Watanabe et al., 1994; Cullinan et al., 1995).

Обнаруженный нами повышенный уровень экспрессии гена *Egr1* у агрессивных крыс по сравнению с ручными, по-видимому, можно объяснить той реакцией на раздражитель (в тесте «на перчатку» это рука человека), по которой проводили искусственный отбор и которая по сути своей является реакцией на стрессовое воздействие. Вероятно, у крыс агрессивной линии восприятие стимула на молекулярном уровне затрагивает механизмы генетического ответа на стресс, в отличие от крыс ручной линии, которые, как описано выше, совершенно спокойно реагируют не только на руку человека в тестовых условиях, но и вне теста на человека в целом. Дифференциальная экспрессия гена *Egr1* между животными с наследственно закрепленным агрессивным/неагрессивным поведением по отношению к человеку представляется, на наш взгляд, весьма интересным результатом, который может быть использован для дальнейших исследований.

Gad2 – еще один ген, для которого нами была показана дифференциальная экспрессия у ручных и агрессивных крыс обоих поколений. Этот ген кодирует глутаматдекарбоксилазу (GAD), которая катализирует преобразование глутамата в ГАМК – нейромедиатор, ингибирующий нервные импульсы. Известно, что ГАМК контролирует агрессивное поведение (Takahashi, Miczek, 2014; Hansen et al., 2018). В более ранних исследованиях на мышах у агрессивных животных выявлен более низкий, по сравне-

нию с неагрессивными, уровень ГАМК из-за пониженной активности GAD в нескольких областях мозга (обонятельная луковица, стриатум и миндалина) (Simler et al., 1982; Clement et al., 1987; Guillot, Charouthier, 1998). Однако эти данные не подтвердились в работе на нокаутных по гену *Gad2* мышцах, у которых было пониженное содержание ГАМК в мозге в период постнатального развития, но у таких мутантных самцов наблюдалась пониженная агрессивность в тесте «резидент–интродер» (Stork et al., 2000). Результат воздействия ГАМК зависит от задействованной области мозга, типа рецепторов, а также от конкретного контекста ситуации, вызывающей агрессивное поведение (Takahashi, Miczek, 2014). В нашей работе повышенный уровень экспрессии гена *Gad2* у агрессивных крыс по сравнению с ручными, вероятнее всего, относится к ситуации, когда увеличение синтеза ГАМК в нейронах гипоталамуса обуславливает агрессивную реакцию животных в тесте «на перчатку», в соответствии с которым и вели искусственный отбор.

Кроме того, необходимо отметить, что результаты проведенного факторного анализа при объединении данных по экспрессии генов у животных 88-го и 90-го поколений позволяют заключить, что хотя искусственный отбор вели по двум векторам (от дикого типа на агрессивное поведение и от дикого типа на ручное поведение), экспрессия 10 исследованных генов связана с двумя факторами – различиями между ручными и агрессивными крысами (т.е. фактор «доместикация», поскольку отбор на ручное поведение представляет собой модель доместикации) и неким общим изменением, одинаковым для рассмотренных двух групп животных (возможно, так называемый эффект лабораторизации, нейтральный дрейф или нечто иное). При этом фактор доместикации объединяет животных обоих поколений, но четко разделяет их по поведенческому фенотипу – ручное и агрессивное поведение (см. рис. 2). Этот результат позволяет сделать вывод о том, что, действительно, повышенная экспрессия генов *Cacna1b*, *Drd2*, *Egr1* и *Gad2* определяет агрессивное поведение у селекционируемых крыс, в то время как пониженная – ручное.

Таким образом, гены *Cacna1b*, *Drd2*, *Egr1*, *Gad2*, для которых нами показана дифференциальная экспрессия у обоих поколений (88-е и 90-е) крыс, селекционируемых по реакции на человека, являются перспективными для дальнейших исследований аспектов доместикации и агрессивного поведения животных. Проявление агрессивной и неагрессивной реакции по отношению к человеку у крыс 88-го и 90-го поколений искусственного отбора по данному признаку контролируют не один, а несколько генов. Причем белки этих генов различаются и по функциям, и по нейромедиаторным системам, с которыми они связаны.

Заключение

В результате анализа экспрессии 10 генов в гипоталамусе крыс, селекционируемых по реакции на человека (ручное и агрессивное поведение), методом ПЦР-РВ показано, что четыре гена дифференциально экспрессируются у ручных и агрессивных крыс 88-го и 90-го поколений разведения. Получено подтверждение полигенной детерминации фенотипического проявления агрессивных реакций на при-

мере модельных животных. Выявлены гены, наиболее перспективные для дальнейших исследований поведенческих особенностей крыс, селекционируемых по реакции на человека.

Список литературы / References

- Беляев Д.К., Бородин П.М. Влияние стресса на наследственную изменчивость и его роль в эволюции. В: Эволюционная генетика. Л., 1985;35-39.
[Belyaev D.K., Borodin P.M. The influence of stress on variation and its role in evolution. In: Evolutionary Genetics. Leningrad, 1985;35-39. (in Russian)]
- Кожемякина Р.В. Приручение серой крысы. *Природа*. 2017;6:70-78.
[Kozhemyakina R.V. Taming of grey rat. *Priroda = Nature*. 2017;6:70-78. (in Russian)]
- Кожемякина Р.В., Коношенко М.Ю., Сахаров Д.Г., Смагин Д.А., Маркель А.Л. Сравнительный анализ поведения в тесте открытого поля диких серых крыс (*Rattus norvegicus*) и серых крыс, прошедших длительный отбор на толерантное и агрессивное поведение. *Журн. высш. нерв. деятельности им. И.П. Павлова*. 2016;66:92-102. DOI 10.7868/S0044467716010093.
[Kozhemyakina R.V., Konoshenko M.Y., Sakharov D.G., Smagin D.A., Markel A.L. Comparative analysis of behavior in the open/field test in wild grey rats (*Rattus norvegicus*) and in grey rats subjected to prolonged selection for tame and aggressive behavior. *Zhurnal Vyshey Nervnoy Deyatel'nosti im. I.P. Pavlova = I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 2016;66:92-102. DOI 10.7868/S0044467716010093. (in Russian)]
- Кудрявцева Н.Н., Маркель А.Л., Орлов Ю.Л. Агрессивное поведение: генетико-физиологические механизмы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(4/3):1133-1155.
[Kudryavtseva N.N., Markel A.L., Orlov Yu.L. Aggressive behavior: genetic and physiological mechanisms. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(4/3):1133-1155. (in Russian)]
- Маркель А.Л. Биосоциальные основы агрессивности и агрессивного поведения. *Журн. высш. нерв. деятельности им. И.П. Павлова*. 2016;66(6):1-12. DOI 10.7868/S0044467716060071.
[Markel A.L. Biosocial base of aggressiveness and aggressive behavior. *Zhurnal Vyshey Nervnoy Deyatel'nosti im. I.P. Pavlova = I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 2016;66(6):1-12. DOI 10.7868/S0044467716060071. (in Russian)]
- Науменко В.С., Кожемякина Р.В., Плюснина И.З., Попова Н.К. Экспрессия гена серотонинового транспортера и реакция рефлекторного вздрагивания у крыс с генетически детерминированной агрессивней, вызванной страхом. *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2009;147(1):86-89.
[Naumenko V.S., Kozhemjakina R.V., Plyusnina I.Z., Popova N.K. Expression of serotonin transporter gene and startle response in rats with genetically determined fear-induced aggression. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2009;147(1):81-83. DOI 10.1007/s10517-009-0441-2.]
- Плюснина И.З., Щепина О.А., Оскина И.Н., Трут Л.Н. Некоторые особенности обучения в водном тесте Морриса у крыс, отобранных по реакции на человека. *Журн. высш. нерв. деятельности им. И.П. Павлова*. 2007;57(3):344-351.
[Plyusnina I.S., Schepina O.A., Oskina I.N., Trut L.N. Some features of learning in the Morris water test in rats selected for responses to humans. *Neurosci. Behav. Physiol*. 2008;38(5):511-516.]
- Albert F.W., Somel M., Carneiro M., Aximu-Petri A., Halbwax M., Thalmann O., Blanco-Aguar J.A., Plyusnina I.Z., Trut L., Villafuerte R., Ferrand N., Kaiser S., Jensen P., Pääbo S. A comparison of brain gene expression levels in domesticated and wild animals. *PLoS Genet*. 2012;8(9):e1002962. DOI 10.1371/journal.pgen.1002962.

- Anholt R.R.H., Mackay T.F.C. Genetics of aggression. *Annu. Rev. Genet.* 2012;46:145-164. DOI 10.1146/annurev-genet-110711-155514.
- Audero E., Mlinar B., Baccini G., Skachokova Z.K., Corradetti R., Gross C. Suppression of serotonin neuron firing increases aggression in mice. *J. Neurosci.* 2013;33(20):8678-8688. DOI 10.1523/JNEUROSCI.2067-12.2013.
- Bunda A., LaCarubba B., Bertolino M., Akiki M., Bath K., Lopez-Soto J., Lipscombe D., Andrade A. *Cacna1b* alternative splicing impacts excitatory neurotransmission and is linked to behavioral responses to aversive stimuli. *Mol. Brain.* 2019;12(1):81. DOI 10.1186/s13041-019-0500-1.
- Castiglioni A.J., Raingo J., Lipscombe D. Alternative splicing in the C-terminus of CaV2.2 controls expression and gating of N-type calcium channels. *J. Physiol.* 2006;576(Pt.1):119-134. DOI 10.1113/jphysiol.2006.115030.
- Cervantes M., Delville Y. Serotonin 5-HT1A and 5-HT3 receptors in an impulsive-aggressive phenotype. *Behav. Neurosci.* 2009;123(3):589-598. DOI 10.1037/a0015333.
- Chu Q., Liang T., Fu L., Li H., Zhou B. Behavioural genetic differences between Chinese and European pigs. *J. Genet.* 2017;96(4):707-715. DOI 10.1007/s12041-017-0826-3.
- Clement J., Simler S., Ciesielski L., Mandel P., Cabib S., Puglisi-Allegra S. Age-dependent changes of brain GABA levels, turnover rates and shock-induced aggressive behavior in inbred strains of mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1987;26(1):83-88. DOI 10.1016/0091-3057(87)90538-7.
- Craig I.W., Halton K.E. Genetics of human aggressive behavior. *Hum. Genet.* 2009;126:101-113. DOI 10.1007/s00439-009-0695-9.
- Cullinan W.E., Herman J.P., Battaglia D.F., Akil H., Watson S.J. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience.* 1995;64:477-505. DOI 10.1016/0306-4522(94)00355-9.
- Cushing B.S. Estrogen receptor alpha distribution and expression in the social neural network of monogamous and polygynous *Peromyscus*. *PLoS One.* 2016;11(3):e0150373. DOI 10.1371/journal.pone.0150373.
- de Boer S.F., Koolhaas J.M. 5-HT1A and 5-HT1B receptor agonists and aggression: a pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis. *Europ. J. Pharmacol.* 2005;526:125-139. DOI 10.1016/j.ejphar.2005.09.065.
- Elizalde N., Pastor P.M., Garcia-Garcia A.L., Serres F., Venzala E., Huarte J., Ramirez M.J., Del Rio J., Sharp T., Tordera R.M. Regulation of markers of synaptic function in mouse models of depression: chronic mild stress and decreased expression of *VGLUT1*. *J. Neurochem.* 2010;114:1302-1314. DOI 10.1111/j.1471-4159.2010.06854.x.
- Fairbanks L.A., Newman T.K., Bailey J.N., Jorgensen M.J., Breidenthal S.E., Ophoff R.A., Comuzzie A.G., Martin L.J., Rogers J. Genetic contributions to social impulsivity and aggressiveness in vervet monkeys. *Biol. Psychiatry.* 2004;55:642-647. DOI 10.1016/j.biopsych.2003.12.005.
- Golden S.A., Jin M., Heins C., Venniro M., Michaelides M., Shaham Y. Nucleus accumbens *Drd1*-expressing neurons control aggression self-administration and aggression seeking in mice. *J. Neurosci.* 2019;39(13):2482-2496. DOI 10.1523/JNEUROSCI.2409-18.2019.
- Guillot P.V., Chapouthier G. Intermale aggression, GAD activity in the olfactory bulbs and Y chromosome effect in seven inbred mouse strains. *Behav. Brain Res.* 1998;90(2):203-206. DOI 10.1016/S0166-4328(97)00110-1.
- Gulevich R.G., Oskina I.N., Shikhevich S.G., Fedorova E.V., Trut L.N. Effect of selection for behavior on pituitary-adrenal axis and proopiomelanocortin gene expression in silver foxes (*Vulpes vulpes*). *Physiol. Behav.* 2004;82(2-3):513-518. DOI 10.1016/j.physbeh.2004.04.062.
- Hansen C.C., Ljung H., Brodtkorb E., Reimers A. Mechanisms underlying aggressive behavior induced by antiepileptic drugs: focus on topiramate, levetiracetam, and perampanel. *Behav. Neurol.* 2018; 2018:2064027. DOI 10.1155/2018/2064027.
- Heyne H.O., Lautenschlager S., Nelson R., Besnier F., Rotival M., Cagan A., Kozhemyakina R., Plyusnina I.Z., Trut L., Carlborg Ö., Petretto E., Kruglyak L., Pääbo S., Schöneberg T., Albert F.W. Genetic influences on brain gene expression in rats selected for tameness and aggression. *Genetics.* 2014;198:1277-1290. DOI 10.1534/genetics.114.168948.
- Hodges T.E., Green M.R., Simone J.J., McCormick C.M. Effects of social context on endocrine function and *Zif268* expression in response to an acute stressor in adolescent and adult rats. *Int. J. Develop. Neurosci.* 2014;35(1):25-34. DOI 10.1016/j.ijdevneu.2014.03.001.
- Hoopfer E.D. Neural control of aggression in *Drosophila*. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2016;38:109-118. DOI 10.1016/j.conb.2016.04.007.
- Hrabovszky E., Halasz J., Meelis W., Kruk M.R., Liposits Z., Haller J. Neurochemical characterization of hypothalamic neurons involved in attack behavior: glutamatergic dominance and co-expression of thyrotropin-releasing hormone in a subset of glutamatergic neurons. *Neuroscience.* 2005;133:657-666. DOI 10.1016/j.neuroscience.2005.03.042.
- Hudziak J.J., van Beijsterveldt C.E.M., Bartels M., Rietveld M.J.H., Rettew D.C., Derks E.M., Boomsma D.I. Individual differences in aggression: genetic analyses by age, gender, and informant in 3-, 7-, and 10-year-old Dutch twins. *Behav. Genet.* 2003;33:575-589. DOI 10.1023/a:1025782918793.
- Ilchibaeva T.V., Kondaurova E.M., Tsybko A.S., Kozhemyakina R.V., Popova N.K., Naumenko V.S. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its precursor (proBDNF) in genetically defined fear-induced aggression. *Behav. Brain Res.* 2015;1(290):45-50. DOI 10.1016/j.bbr.2015.04.041.
- Kim C., Jeon D., Kim Y.-H., Lee C.J., Kim H., Shin H.-S. Deletion of N-type Ca²⁺ channel Ca_v2.2 results in hyperaggressive behaviors in mice. *J. Biol. Chem.* 2009;284(5):2738-2745. DOI 10.1074/jbc.M807179200.
- Kim V., Zhang-James Y., Fernandez-Castillo N., Bakker M., Cormand B., Faraone S.V. Genetics of aggressive behavior: an overview. *Am. J. Med. Genet. Part B.* 2015;171B:3-43. DOI 10.1002/ajmg.b.32364.
- Knapkian E., Kaczmarek L. A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: *Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK*? *Prog. Neurobiol.* 2004;74(4):183-211. DOI 10.1016/j.pneurobio.2004.05.007.
- Kruk M.R. Ethology and pharmacology of hypothalamic aggression in the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1991;15:527-538. DOI 10.1016/S0149-7634(05)80144-7.
- Kulikov A.V., Osipova D.V., Naumenko V.S., Terenina E., Mormède P., Popova N.K. A pharmacological evidence of positive association between mouse intermale aggression and brain serotonin metabolism. *Behav. Brain Res.* 2012;233(1):113-119. DOI 10.1016/j.bbr.2012.04.031.
- Lin D., Boyle M.P., Dollar P., Lee H., Lein E.S., Perona P., Anderson D.J. Functional identification of an aggression locus in the mouse hypothalamus. *Nature.* 2011;470:221-226. DOI 10.1038/nature09736.
- Lindenfors P., Tullberg B.S. Evolutionary aspects of aggression: the importance of sexual selection. *Adv. Genet.* 2011;75:7-22. DOI 10.1016/B978-0-12-380858-5.00009-5.
- Miczek K.A., Fish E.W., de Bold J.F., de Almeida R.M. Social and neural determinants of aggressive behavior: pharmacotherapeutic targets at serotonin, dopamine and γ -aminobutyric acid systems. *Psychopharmacology.* 2002;163:434-458. DOI 10.1007/s00213-002-1139-6.
- Nelson R.J., Demas G.E., Huang P.L., Fishman M.C., Dawson V.L., Dawson T.M., Snyder S.H. Behavioral abnormalities in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Nature.* 1995;378(6555):383-386. DOI 10.1038/378383a0.
- Olivier B. Serotonin and aggression. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010;1036:382-392. DOI 10.1196/annals.1330.022.

- Park H.J., Kim S.K., Kang W.S., Chung J.H., Kim J.W. Increased activation of synapsin I and mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinase in the amygdala of maternal separation rats. *CNS Neurosci. Ther.* 2014;20(2):172-181. DOI 10.1111/cns.12202.
- Pavlov K.A., Chistiakov D.A., Chekhonin V.P. Genetic determinants of aggression and impulsivity in humans. *J. Appl. Genet.* 2012;53:61-82. DOI 10.1007/s13353-011-0069-6.
- Qadeer M.I., Amar A., Mann J.J., Hasnain S. Polymorphisms in dopaminergic system genes; association with criminal behavior and self-reported aggression in violent prison inmates from Pakistan. *PLoS One.* 2017;12(6):e0173571. DOI 10.1371/journal.pone.0173571.
- Raleigh M.J., McGuire M.T., Brammer G.L., Pollack D.B., Yuwiler A. Serotonergic mechanisms promote dominance acquisition in adult male vervet monkeys. *Brain Res.* 1991;559:181-190. DOI 10.1016/0006-8993(91)90001-C.
- Reif A., Jacob C.P., Rujescu D., Herterich S., Lang S., Gutknecht L., Baehne C.G., Strobel A., Freitag C.M., Giegling I., Romanos M., Hartmann A., Rosler M., Renner T.J., Fallgatter A.J., Retz W., Ehli A.C., Lesch K.P. Influence of functional variant of neuronal nitric oxide synthase on impulsive behaviors in humans. *Arch. Gen. Psych.* 2009;66(1):41-50. DOI 10.1001/archgenpsychiatry.2008.510.
- Saetre P., Strandberg E., Sundgren P.-E., Pettersson U., Jazin E., Bergström T.F. The genetic contribution to canine personality. *Genes Brain Behav.* 2006;5:240-248. DOI 10.1111/j.1601-183X.2005.00155.x.
- Satoh Y., Endo S., Nakata T., Kobayashi Y., Yamada K., Ikeda T., Takeuchi A., Hiramoto T., Watanabe Y., Kazama T. *ERK2* contributes to the control of social behaviors in mice. *J. Neurosci.* 2011;31(33):11953-11967. DOI 10.1523/JNEUROSCI.2349-11.2011.
- Simler S., Puglisi-Allegra S., Mandel P. γ -Aminobutyric acid in brain areas of isolated aggressive or non-aggressive inbred strains of mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1982;16:57-61. DOI 10.1016/0091-3057(82)90013-2.
- Stork O., Ji F.Y., Kaneko K., Stork S., Yoshinobu Y., Moriya T., Shibata S., Obata K. Postnatal development of a GABA deficit and disturbance of neural functions in mice lacking *GAD65*. *Brain Res.* 2000;865(1):45-58. DOI 10.1016/S0006-8993(00)02206-X.
- Summers C.H., Winberg S. Interactions between the neural regulation of stress and aggression. *J. Experim. Biol.* 2006;209:4581-4589. DOI 10.1242/jeb.02565.
- Takahashi A., Miczek K.A. Neurogenetics of aggressive behavior: studies in rodents. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 2014;17:3-44. DOI 10.1007/7854_2013_263.
- Topilko P., Schneider-Maunoury S., Levi G., Trembleau A., Gourdji D., Driancourt M.-A., Rao Ch.V., Charnay P. Multiple pituitary and ovarian defects in *Krox-24* (*NGFI-A*, *Egr-1*)-targeted mice. *Mol. Endocrinol.* 1998;12(1):107-122. DOI 10.1210/mend.12.1.0049.
- VanErp A.M.M., Miczek K.A. Aggressive behavior, increased accumbal dopamine, and decreased cortical serotonin in rats. *J. Neurosci.* 2000;20(24):9320-9325. DOI 10.1523/JNEUROSCI.20-24-09320.2000.
- VanOortmerssen G.A., Bakker T.C. Artificial selection for short and long attack latencies in wild *Mus musculus domesticus*. *Behav. Genet.* 1981;11(2):115-126. DOI 10.1007/bf01065622.
- Værøy H., Adori C., Legrand R., Lucas N., Breton J., Cottard C., do Rego J.C., Duparc C., Louiset E., Lefebvre H., Déchelotte P., Western E., Andersson S., Hökfelt T., Fetissov S.O. Autoantibodies reactive to adrenocorticotrophic hormone can alter cortisol secretion in both aggressive and nonaggressive humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018;115(28):E6576-E6584. DOI 10.1073/pnas.1720008115.
- Vekovischeva O.Y., Aitta-aho T., Echenko O., Kankaanpää A., Sepälä T., Honkanen A., Sprengel R., Korpi E.R. Reduced aggression in AMPA-type glutamate receptor GluR-A subunit-deficient mice. *Genes Brain Behav.* 2004;3:253-265. DOI 10.1111/j.1601-1848.2004.00075.x.
- Veroude K., Zhang-James Y., Fernandez-Castillo N., Bakker M.J., Command B., Faraone S.V. Genetics of aggressive behavior: an overview. *Am. J. Med. Genet. Part B.* 2016;171B:3-43. DOI 10.1002/ajmg.b.32364.
- Watanabe Y., Stone E., McEwen B.C. Induction and habituation of c-Fos and *Zif/268* by acute and repeated stressors. *NeuroReport.* 1994;5:1321-1324. DOI 10.1097/00001756-199406270-00006.
- Wulsch T., Chourbaji S., Fritzen S., Kittel S., Grünblatt E., Gerlach M., Gutknecht L., Chizat F., Gölfler G., Schmitt A., Gass P., Lesch K.-P., Reif A. Behavioural and expressional phenotyping of nitric oxide synthase-I knockdown animals. *J. Neural. Transm. Suppl.* 2007;72:69-85. DOI 10.1007/978-3-211-73574-9_10.
- Yamaguchi T., Lin D. Functions of medial hypothalamic and mesolimbic dopamine circuitries in aggression. *Curr. Opin. Behav. Sci.* 2018;24:104-112. DOI 10.1016/j.cobeha.2018.06.011.
- Zamponi G. Targeting voltage-gated calcium channels in neurological and psychiatric diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2016;15:19-34. DOI 10.1038/nrd.2015.5.

ORCID ID

I.V. Chadaeva orcid.org/0000-0002-2724-5441

Благодарности. Работа проведена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00496 для ИВЧ, бюджетного проекта № 0324-2019-0042 для НВК, бюджетного проекта АААА-А17-117072710029-7 для СГШ и РВК.

Авторы выражают благодарность д.б.н. В.М. Ефимову за помощь в статистическом анализе данных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 25.03.2020. После доработки 31.10.2020. Принята к публикации 03.11.2020. Опубликовано онлайн 11.02.2021.