

**ВЛИЯНИЕ МИКРОИНЪЕКЦИЙ АГОНИСТА И АНТАГОНИСТА  
РЕЦЕПТОРОВ СЕРОТОНИНА (5-НТ 2А/С) В МИНДАЛИНУ КРЫС  
НА ТРЕВОЖНОЕ ПОВЕДЕНИЕ И УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНЫЙ СТРАХ**

© 2019 г. И. В. Павлова<sup>1, \*</sup>, Н. Д. Брошевицкая<sup>1</sup>, М. П. Рысакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

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

Поступила в редакцию 10.01.2019 г.

После доработки 28.03.2019 г.

Принята к публикации 19.04.2019 г.

Изучали роль 5-НТ 2А/С рецепторов миндалины при выработке, тестировании и угашении условнорефлекторного страха, а также при тревожном поведении животных. Микроинъекция антагониста (кетансерина, 0.5 мкг/0.5 мкл) рецепторов в базолатеральное ядро миндалины уменьшала проявление условнорефлекторного страха в виде замирания и препятствовала повторному обучению, но не влияла на тревожное поведение крыс. Введение агониста (DOI, 1 мкг/0.5 мкл) приводило к увеличению двигательной активности, паникоподобному поведению и снижению тревожности, уменьшению проявления страха в виде замирания. Воздействие как агониста, так и антагониста 5-НТ 2А/С рецепторов было способно ускорить угашение страха у крыс с длительным замиранием, который с трудом поддается угашению. Полученные результаты свидетельствуют о том, что 5-НТ 2А/С рецепторы миндалины играют существенную роль в возникновении и сохранении условнорефлекторного страха, проявляющегося в виде замирания.

*Ключевые слова:* миндалина, 5-НТ 2А/С рецепторы, агонист, антагонист, тревожность, условнорефлекторный страх

**DOI:** 10.1134/S0869813919070070

В авersive ситуациях, при потенциальной и реальной угрозе у животных выявляются индивидуально-групповые особенности поведения. В тестах на тревожность выделяют низко- и высокотрещовных особей, основываясь на способности животных выходить в потенциально опасные отсеки лабиринтов и камер. При выработке классического оборонительного рефлекса (fear conditioning) выделяют группы с разной длительностью замирания – низко- или высокореактивные животные [1, 2], мало- и многозамирающие крысы [3]. Изучение нейромедиаторных механизмов, обеспечивающих разное проявление и скорость угашения условнорефлекторного страха, является актуальной задачей для понимания закономерностей возникновения и регуляции эмоциональных состояний. Особый интерес вызывает поиск препаратов, способных повлиять на поведение высокотрещовных особей, а также скорость угашения и проявление страха у животных с высоким уровнем замирания, поскольку такие животные могут служить моделью невротических расстройств у человека, возникающих при нарушениях в угашении страха (например, трещовных и посттравматических стрессовых расстройств).

Согласно данным литературы базолатеральное ядро миндалины является ключевой структурой в нейронных сетях, обеспечивающих как возникновение, так и

угашение условнорефлекторного страха и тревожного состояния [4]. Миндалина находится под модулирующим влиянием моноаминергических систем, в частности, серотонинергической системы. Серотонинергические проекции следуют к миндалине от дорзального ядра шва среднего мозга [5]. Согласно представлениям F.G. Graeff активация восходящих дорзальных серотонинергических путей от ядра шва, иннервирующих миндалину и фронтальную кору, приводит к облегчению выработки условнорефлекторного страха и усилению тревожности, в то время как активация перивентрикулярного пути к дорзальному серому околосредоводопроводному веществу вызывает торможение врожденных реакций в виде бегства, борьбы, панических проявлений [6, 7]. Известно, что концентрация серотонина (5-НТ) увеличивается в миндалине при стрессе, при выработке и проявлении условнорефлекторного страха [8–10]. В миндалине обнаружено несколько подтипов рецепторов к 5-НТ, при этом роль 5-НТ 1А и 5-НТ 2А/С рецепторов в регуляции страха и тревожности может отличаться [11]. Ранее нами было показано участие 5-НТ 1А рецепторов миндалины крыс при выработке и угашении условнорефлекторного страха [12] и тревожности [13]. Особый интерес вызывают 5-НТ 2А/С рецепторы, которые широко представлены в базолатеральном ядре миндалины (BLA). С помощью иммуногистохимической техники была показана локализация 5-НТ 2А рецепторов на пирамидных проекционных нейронах, а также на парвальбумин- и соматостатин-содержащих интернейронах [14]. При системном введении агонисты 5-НТ 2А рецепторов улучшают выработку мигательного рефлекса [15], облегчают консолидацию и угашение памяти о страхе и консолидацию объектной памяти [16], улучшают память о социальном поражении (conditioned defeat) [17]. Введение антагонистов, наоборот, уменьшает признаки социального поражения [17], а также условнорефлекторный страх на обстановку [18] и замедляет угашение страха [16]. Системное введение агонистов 5-НТ 2С рецепторов приводило к анксиогенному эффекту на поведение в приподнятом крестообразном лабиринте и открытом поле [19]. Поскольку в данных работах применялось системное введение агонистов и антагонистов, оставалось не ясным, какие структуры опосредуют наблюдаемые эффекты, поскольку 5-НТ 2А/С рецепторы широко представлены не только в миндалине, но и в гиппокампе, гипоталамусе и коре мозга [11]. Работы с локальным введением агонистов или антагонистов 5-НТ 2А/С рецепторов непосредственно в миндалину малочисленны и касаются в основном тревожного поведения. Имеются сведения о влиянии введения в базолатеральную миндалину лигандов 5-НТ 2 рецепторов на поведение животных в открытом поле [20], в Т-образном лабиринте [21], а также в таких моделях как условнорефлекторная аверсия на место [22], условнорефлекторное поражение при социальных конфликтах [23]. Следует признать, что роль 5-НТ 2А/С рецепторов миндалины при условнорефлекторном страхе и его угашении изучена недостаточно. Данные литературы не дают ответа на вопрос о связи между степенью активности данных рецепторов в миндалине и проявлением индивидуально-групповых особенностей оборонительного поведения, в частности, с разным уровнем замирания у животных.

Целью данной работы было изучить роль 5-НТ 2А/2С рецепторов миндалины в тревожном поведении и при условных оборонительных рефлексах у крыс с различными индивидуально-групповыми особенностями поведения. В задачи нашей работы входило исследование влияния локального введения в базолатеральную миндалину агониста и антагониста 5-НТ 2А/С рецепторов на тревожное поведение животных, а также на проявление, угашение и повторную выработку условнорефлекторного страха у мало- и многозамирающих крыс.

Известно, что 5-НТ2А и 5-НТ2С рецепторы сходны по структуре, фармакологии и сигнальным путям, а активация как 5-НТ2А, так и 5-НТ2С рецепторов в отличие, например, от 5НТ 1А рецепторов приводит к деполяризации клеток [24]. В

связи с этим во многих работах используют неспецифические 5-НТ 2А/2С лиганды. Однако есть данные, что помимо стабильных гомодимеров 5-НТ2С и 5-НТ2А данные подтипы рецепторов могут образовывать гетеродимеры [25], в этом случае лиганды оказывают влияние преимущественно на 5-НТ2С рецепторы. В настоящее время гетеродимеры данных рецепторов исследованы в искусственно созданных условиях, а именно на культурах клеток (не нейронов), в миндалине они на сегодняшний день не обнаружены, хотя и отмечаются потенциально возможные для них локусы [24]. Исходя из этого, в работе применялись неспецифический агонист DOI и антагонист кетансерин.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Объект исследования.** Опыты проводили в условиях хронического эксперимента на 45 крысах-самцах Вистар массой 270–350 г, полученных из филиала “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Животные содержались в виварии при обычном 12-часовом световом режиме со свободным доступом к воде и стандартному корму в клетках по 5–6 крыс. В экспериментах соблюдали принципы гуманности, изложенные в директивах Европейского Сообщества (2010/63/EU), и положения ИВНД и НФ РАН о работе с экспериментальными животными.

**Тестирование крыс на тревожность и паникоподобное поведение.** В работе изучали поведение крыс в трех тестах на тревожность: в “открытом поле” (ОП), в “приподнятом крестообразном лабиринте” (ПКЛ), в “темно-светлой камере” (ТСК). Первый раз животных тестировали до операции в самом начале экспериментов после 4–5-дневного хендлинга, второй раз – через 3 недели на фоне введения препаратов в миндалину. Использовали общепринятые размеры и конфигурации лабиринта и камер, которые были подробно описаны ранее [2, 5]. Время наблюдения в каждом тесте составляло 5 мин. Для фиксирования траектории движения крыс и элементов поведения использовали программу Etho Vision, а также видеорегистрацию. Анализировали показатели, отражающие тревожность/смелость крыс (число и длительность выходов в центр ОП, в открытые рукава ПКЛ, в светлый отсек ТСК), двигательную активность крыс (пройденную дистанцию, скорость движения, время движения, число переходов между рукавами в ПКЛ или отсеками в ТСК), исследовательское поведение (стойки, выглядывания), поведение по оценке риска (свешивания в ПКЛ, вытягивания), элементы замещающего поведения (число и длительность груминга), а также ряд показателей, отражающих вегетативные реакции (число дефекаций и уринаций). В работе использовали три теста на тревожность, поскольку, как было ранее показано, поведение крыс линии Вистар не коррелирует между собой в разных тестах, что связано, по-видимому, с возникновением разных видов тревожности [3].

Для оценки тревожности и паникоподобного поведения в работе также использовался Т-образный приподнятый лабиринт (ТПЛ), в котором животных тестировали один день на фоне введения препаратов в миндалину. В трех пробах измеряли латентность выхода в открытый рукав из закрытого, в конец которого помещалась крыса экспериментатором в начале опыта (тест на тревожность). В трех пробах также определяли латентность входа в закрытый рукав при посадке крысы на конец открытого рукава (тест на паникоподобное поведение). За день до эксперимента животных помещали в открытый рукав на 20 мин, согласно рекомендациям [6].

**Выработка, тестирование и угашение классического условного оборонительного рефлекса (УОР).** Для выработки классического Павловского условного оборонительного рефлекса использовали камеру Startle and Fear Combined System производства PanLab Harvard apparatus (Испания, 2000). При обучении после 120 с интервала исследования камеры животным давали 5 сочетаний звука (30 с, 80 дБ, 2000 Гц) и

электрокожного раздражения (2 с, 0.8 мА, задержка 28 с от начала действия звука) с 20-секундными межсигнальными интервалами. Затем через 24 ч после обучения проводили тестирование условнорефлекторного страха (Тест 1), при этом предъявляли только звук (120 с, 80 дБ, 2000 Гц). На основании данных Теста 1 крысы были поделены на группы много- и малозамирающих животных, для этого использовали медианный тест. К группе малозамирающих животных были отнесены крысы, замирающие 20–70% времени, а к группе многозамирающих – более 70% времени. Через 24 ч проводили Тест 2, за 10 мин перед началом которого в миндалину вводили препараты. Далее в двух опытах с предварительным введением препаратов в миндалину проводили угашение условнорефлекторного страха, при этом давали 10 изолированных звуковых стимулов (30 с, 80 дБ, 2000 Гц) без электрокожных раздражений. После каждого опыта с угашением тестировали сохранность рефлекса (Тесты 3 и 4). На последнем этапе проводили повторное обучение на фоне введения препаратов в миндалину, что позволяло оценить их влияние на выработку условнорефлекторного страха. Перед и после повторного обучения следовали Тесты 5 и 6. Более подробно методика была описана ранее [26].

Поведение крыс анализировали в интервалы времени до, во время и после действия звука. Замирание (периоды неподвижности, когда можно было наблюдать только дыхательные движения животного) определяли с помощью амплитудного и временного порогов. Обработка проводилась с помощью стандартной программы, прилагающейся к установке фирмы Panlab.

**Выработка условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ)** проходила в темно-светлой камере (аппаратно-программный комплекс Шелтер, ООО “Нейроботикс”, 2017). Через 30 с после помещения крысы в светлый отсек, открывалась дверца между светлым и темным отсеком, и в течение 180 с у крысы была возможность переходить из одного отсека в другой. После двух контрольных опытов, в которых измеряли латентность ухода из светлого отсека в темный, вырабатывали УРПИ путем подачи тока на пол темного отсека (3 с, 0.8 мА) после захода в него крысы. За 10 мин до опыта с обучением в миндалину вводили препараты. В последующих 5 опытах, проводимых каждый день, смотрели сохранность и угашение рефлекса. Определяли латентность ухода в темный отсек и время пребывания в нем, число заглядываний, стоек, актов груминга, число дефекаций и уринаций. Выделяли заглядывания с постановкой лап на пол темного отсека и заглядывания с засовыванием только головы в аверсивный отсек.

**Хирургическая операция.** За 10 дней до начала опытов с локальной инъекцией веществ крысам стереотаксически вживляли стальные направляющие (диаметром 0.6 мм) с находящимися внутри канюлями (диаметром 0.3 мм). Кончики канюль располагались в правом и левом базолатеральном ядре миндалины по координатам AP = -2.8, L = 4.8, H = 8.5 [27] и выступали из направляющих на 0.7–1.0 мм. Направляющие закреплялись на кости с помощью стоматологической пластмассы карбодент. На время пребывания животных в виварии канюлю заменяли на мандары такой же длины и диаметра как канюли. Во время операции для наркоза использовали хлоралгидрат (400 мг/кг, внутривенно). В конце операции крысам вводили антибиотик амоксициллин (0.2 мл, внутримышечно) и раствор глюкозы (2 мл, подкожно, в холку).

**Введение препаратов.** Вещества, растворенные в физиологическом растворе, вводили с помощью шприца Гамильтона и электронного инжектора Stoelting со скоростью 0.25 мкл/мин одновременно в правую и левую миндалину. После окончания введения канюля извлекалась из направляющей через 60 с. Вводили агонист 5-HT 2A/C рецепторов DOI гидрохлорид (1 мкг/0.5 мкл, Sigma), антагонист кетансерин (0.5 мкг/0.5 мкл, Sigma), физиологический раствор (0.5 мкл, контроль). Дозировку препаратов подбирали, исходя из описанного в литературе эффективного

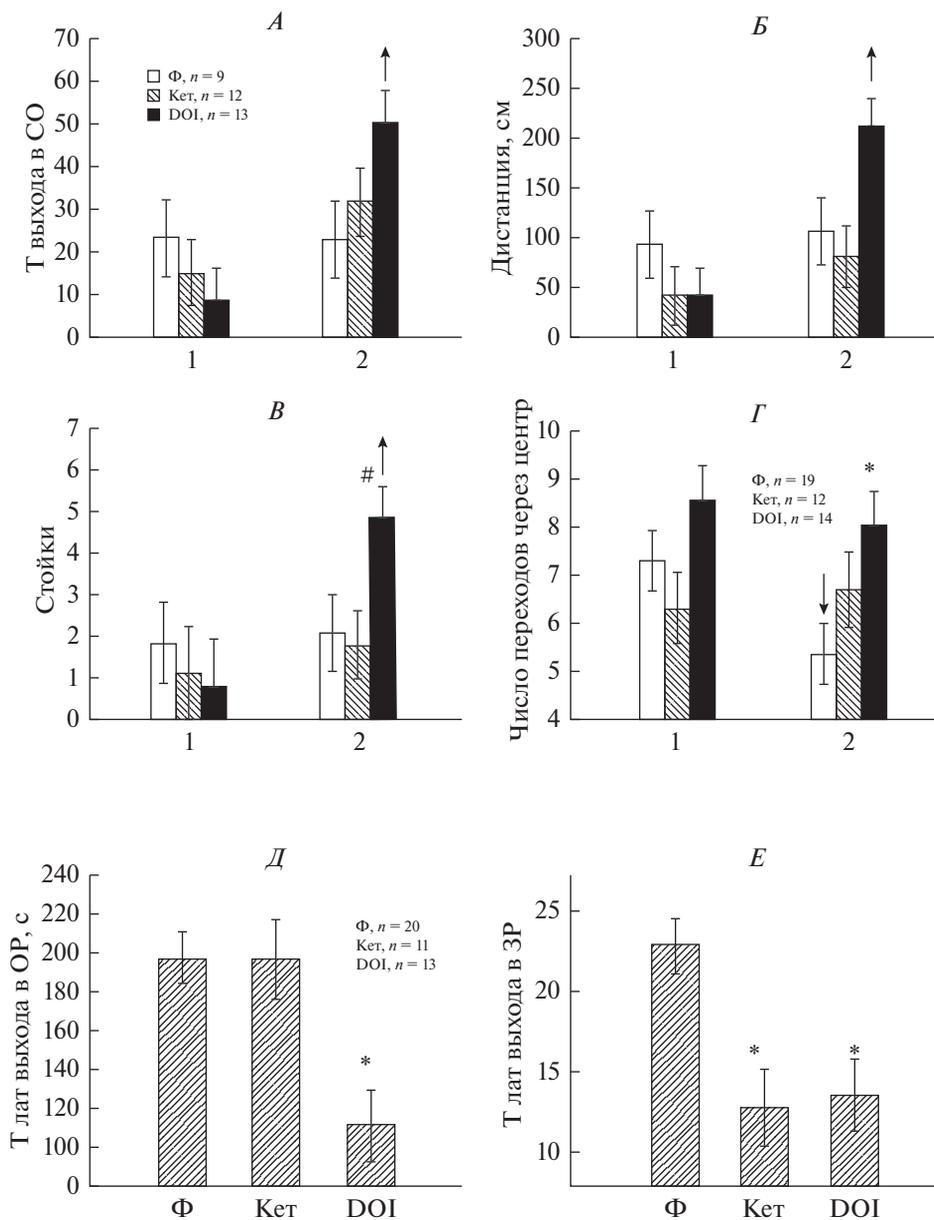
диапазона [22, 28–30]. Крыс делили на три подгруппы: одной на протяжении всех опытов вводили агонист (14 крыс), другой антагонист (12 крыс), третьей физиологический раствор (19 крыс). Интервалы времени между опытами с введением препаратов были не менее двух суток.

**Морфологический контроль.** После окончания опытов крыс умерщвляли путем внутрибрюшинного введения двойной дозы наркоза. Череп извлекали и помещали в 10%-ный раствор формалина на 3–5 суток. Срезы изготавливали на замораживающем микротоме. По результатам морфологического контроля оказалось, что из 90 канюль, вживленных 45 крысам, у 64 кончики располагались в различных отделах базолатерального комплекса миндалины (BLA, BLP, BLV), у 10 – в центральных ядрах (CeC, CeM), у 9 – в латеральных ядрах (LaVL, LaVM), у 7 – на границе CeC и BLA [27]. Результаты, представленные в статье, были получены на крысах с расположением обеих канюль в базолатеральных ядрах справа и слева, а также на животных с одной канюлей в центральном или латеральном ядре, а другой в базолатеральном ядре.

**Статистическая обработка результатов.** Для обработки результатов использовали стандартную программу STATISTICA 8.0. С применением *basic statistics* строили распределение крыс по различным показателям. Распределение параметров, проанализированных в статье, было проверено на нормальность по критерию Kolmogorov–Smirnov (Basic Statistics, раздел Descriptive Statistics). Процент времени замирания, анализируемый при классическом оборонительном рефлексе, удовлетворял данному критерию, в этом случае при сопоставлении групп крыс использовали дисперсионный анализ ANOVA, раздел для повторных измерений (*repeated measures ANOVA*) и многофакторный анализ (*factorial ANOVA*). При применении ANOVA с повторными измерениями ( $R > 2$ ) использовали тест Mauchly's test of Sphericity. При отсутствии сферичности применяли Pillai's test из раздела Multivariate tests. При *post-hoc* анализе использовали критерий Newman-Keuls. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ , отмечали наличие тенденции при  $0.05 \leq p \leq 0.1$ . При отсутствии нормальности распределения поведенческих параметров использовали Kruskal-Wallis ANOVA, а также Mann–Whitney U test. При сравнении процентных соотношений использовали  $2 \times 2$  Table (Non-parametric Statistics), применяли критерий  $\chi^2$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**1. Влияние введения агониста и антагониста 5-HT<sub>2A/C</sub> рецепторов в миндалину на тревожное и паникоподобное поведение крыс.** Из всех проанализированных тестов на тревожность наибольшие изменения в поведении крыс под влиянием вводимых препаратов наблюдали в ТСК и ТПЛ. В ОП не было обнаружено изменений ни в одном из проанализированных параметров поведения крыс после введения кетансерина или DOI. При анализе сопоставляли данные при первом (без препаратов) и втором тестировании (на фоне введения препаратов) с помощью Mann–Whitney U test. В ТСК при втором тестировании после введения DOI по сравнению с первым опытом происходило увеличение времени выхода в светлый отсек камеры ( $U = 30$ ,  $p = 0.004$ ), длины пройденной дистанции ( $U = 31$ ,  $p = 0.006$ ) и числа стоек ( $U = 16$ ,  $p = 0.043$ , рис. 1А–В). В контрольной группе после введения физиологического раствора данные параметры не менялись при втором тестировании (рис. 1А–В). Полученные данные можно рассматривать как свидетельство снижения уровня тревожности, увеличения двигательной и исследовательской активности крыс в ТСК под влиянием DOI. Все прочие показатели поведения крыс в ТСК не менялись после введения DOI. В ПКЛ под влиянием введения DOI в миндалину не происходило изменений времени и числа выходов в открытые рукава лабиринта, а



**Рис. 1.** Влияние введения кетансерина (Кет), DOI и физиологического раствора ( $\Phi$ ) в миндалину крыс на поведение в тестах ТСК (А, В, В), ПКЛ (Г) и ТПЛ (Д, Е). По оси абсцисс на А–Г – 1 – первая посадка без препаратов, 2 – вторая посадка после введения препаратов, на Д–Е – вводимые препараты. Т – время, Т лат. – латентность, ОР – открытые рукава, ЗР – закрытые рукава, СО – светлый отсек. ↓↑ – снижение/увеличение на второй посадке по сравнению с первой ( $p < 0.05$ , Mann–Whitney U test). \* – значимые отличия при введении агониста/антагониста по сравнению с введением физиологического раствора ( $p < 0.05$ ) (Kruskal–Wallis ANOVA).  $n$  – число крыс в группе. Данные представлены в виде среднее  $\pm$  ошибка среднего.

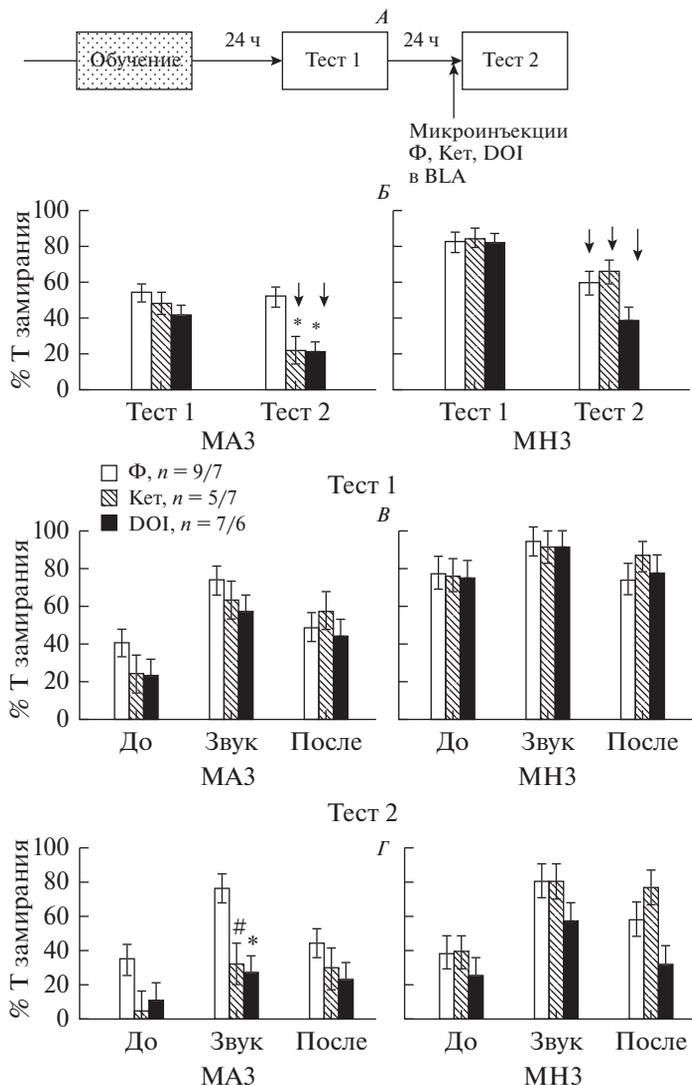
также длины пройденной дистанции. Однако число переходов через центр при втором тестировании снижалось на фоне физиологического раствора ( $U = 14$ ,  $p = 0.021$ ), чего не происходило на фоне DOI (рис. 1Г). Число переходов через центр после введения DOI было статистически значимо больше, чем после введения физиологического раствора (Multiple Comparisons,  $p = 0.016$ ; Kruskal–Wallis ANOVA,  $H(2, N = 45) = 7.930$ ,  $p = 0.019$ , рис. 1Г), что свидетельствовало об увеличении двигательной активности. Введение кетансерина не вызывало изменений ни в одном из проанализированных параметров поведения крыс в ТСК и ПКЛ. После введения DOI отмечалось также увеличение агрессивноподобного поведения крыс по отношению к экспериментатору, стремление убежать и даже спрыгнуть с экспериментального стола, на котором проводилось вставление канюль в направляющие на голове крысы.

В ТПЛ (рис. 1Д) на фоне введения DOI латентность выходов в открытые рукава была ниже, чем на фоне физиологического раствора (Multiple Comparisons,  $p = 0.012$ ; Kruskal–Wallis ANOVA,  $H(2, N = 132) = 10.56$ ,  $p = 0.005$ ), что указывало на снижение тревожности. На фоне DOI (Multiple Comparisons,  $p = 0.019$ ), и кетансерина ( $p = 0.009$ ) латентность входа в закрытый рукав из открытого была ниже, чем на фоне физиологического раствора (Kruskal–Wallis ANOVA,  $H(2, N = 116) = 11.36$ ,  $p = 0.003$ , рис. 1Е), что можно рассматривать как проявление паникоподобного состояния.

Таким образом, судя по результатам тестирования в ТСК, ПКЛ и ТПЛ, микроинъекция DOI в миндалину вызывала увеличение двигательной активности, снижение тревожности, увеличение паникоподобного поведения крыс. Кетансерин оказывал меньшее влияние на поведение крыс в тестах на тревожность, приводя к сокращению латентности ухода в закрытый рукав ТПЛ.

**2. Влияние введения агониста и антагониста 5-HT 2A/C рецепторов в миндалину на проявление условнорефлекторного страха.** Сопоставление суммарных данных по времени замирания крыс в Тесте 1 и 2 (рис. 2А, Б) с помощью Repeated measures ANOVA выявило влияние факторов “препарат” ( $F_{2,117} = 5.25$ ,  $p = 0.007$ ), “группа крыс” ( $F_{1,117} = 45.31$ ,  $p < 0.001$ ), “№ теста” ( $F_{1,117} = 71.23$ ,  $p < 0.001$ ), взаимодействие всех трех факторов проявлялось на уровне тенденции ( $F_{2,117} = 3.04$ ,  $p = 0.052$ ). Подробный анализ по различным интервалам времени в опыте показал, что в Тесте 1 через 24 ч после обучения между подгруппами крыс, которым в дальнейшем вводили разные препараты, не было обнаружено различий в проценте времени замирания (фактор “препарат”  $F_{2,105} = 0.96$ ,  $p = 0.388$ , Factorial ANOVA, рис. 2А, Б). Через 24 ч в Тесте 2 (рис. 2Г) после введения препаратов различия возникали, фактор “препарат” оказывал существенное влияние ( $F_{2,105} = 10.09$ ,  $p < 0.001$ ), было также обнаружено взаимодействие факторов “препарат”/“группа крыс” ( $F_{2,105} = 4.67$ ,  $p = 0.011$ ). Введение как кетансерина, так и DOI перед Тестом 2 по сравнению с физиологическим раствором вызывало снижение времени замирания в ответ на звук, причем это происходило только у малозамирающих крыс (рис. 2Г). Поведение многозамирающих крыс практически не менялось под влиянием препаратов. Таким образом, введение кетансерина и DOI в миндалину уменьшало проявление условнорефлекторного страха в виде замирания, причем препараты оказывали влияние только на малозамирающих крыс.

**3. Влияние введения агониста и антагониста 5-HT 2A/C рецепторов в миндалину на угашение условнорефлекторного страха.** Сопоставление суммарных данных по времени замирания крыс в Тесте 1, 3 и 4 (рис. 3А, Б) с помощью Repeated measures ANOVA выявило влияние факторов “препарат” ( $F_{2,110} = 16.3$ ,  $p < 0.001$ ), “группа крыс” ( $F_{1,110} = 44.0$ ,  $p < 0.001$ ), “№ теста” ( $F_{2,220} = 201$ ,  $p < 0.001$ ), а также взаимодействии всех трех факторов ( $F_{4,220} = 5.4$ ,  $p < 0.001$ ). Подробный анализ по различным



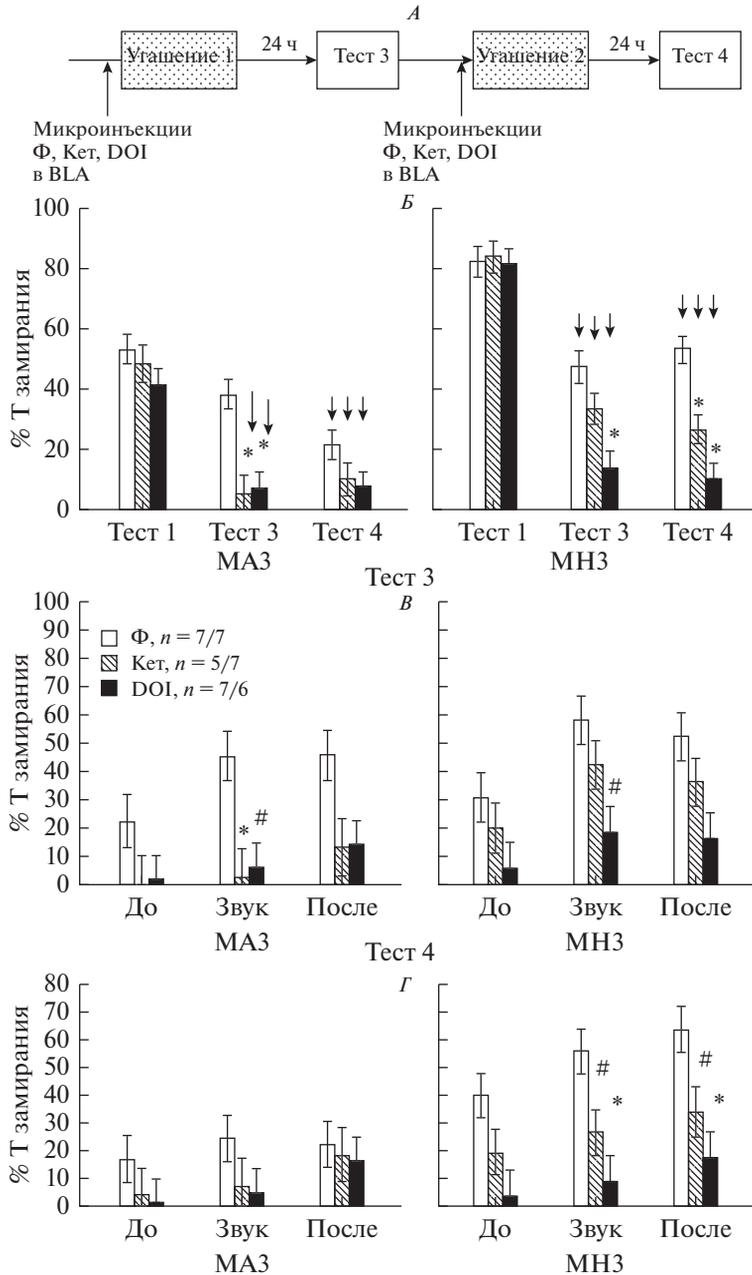
**Рис. 2.** Влияние введения кетансерина (Кет), DOI и физиологического раствора (Φ) в миндалину крыс на проявление условнорефлекторного страха. *А* – схема экспериментов, *Б* – сопоставление Теста 1 и 2 с помощью Repeated measures ANOVA, *В* – Тест 1, *Г* – Тест 2 после введения препаратов. По оси абсцисс на *Б* – номер Теста, на *В* и *Г* – интервалы времени в опыте, До – до, Звук – во время, После – после действия звука. По оси ординат – процент времени замирания крыс. МА3 – группа мало замирающих крыс, МН3 – группа много замирающих крыс. ↓↑ – уменьшение/увеличение по сравнению с Тестом 1 (post hoc анализ). \* – статистически значимые отличия в подгруппах с введением кетансерина или DOI по сравнению с введением физиологического раствора ( $p < 0.05$ , Factorial ANOVA, post hoc анализ, критерий Newman-Keuls), # – тенденция ( $0.05 \leq p < 0.1$ ).  $n$  – число крыс в группах МА3/МН3.

интервалам времени в опыте показал, что введение препаратов перед сеансами угашения оказывало влияние на замирание в последующих Тесте 3 (фактор “препарат”  $F_{2,99} = 21.43$ ,  $p < 0.001$ ) и Тесте 4 (фактор “препарат”  $F_{2,99} = 17.35$ ,  $p = 0.006$ ), причем в Тесте 4 было обнаружено взаимодействие факторов “препарат”/“группа

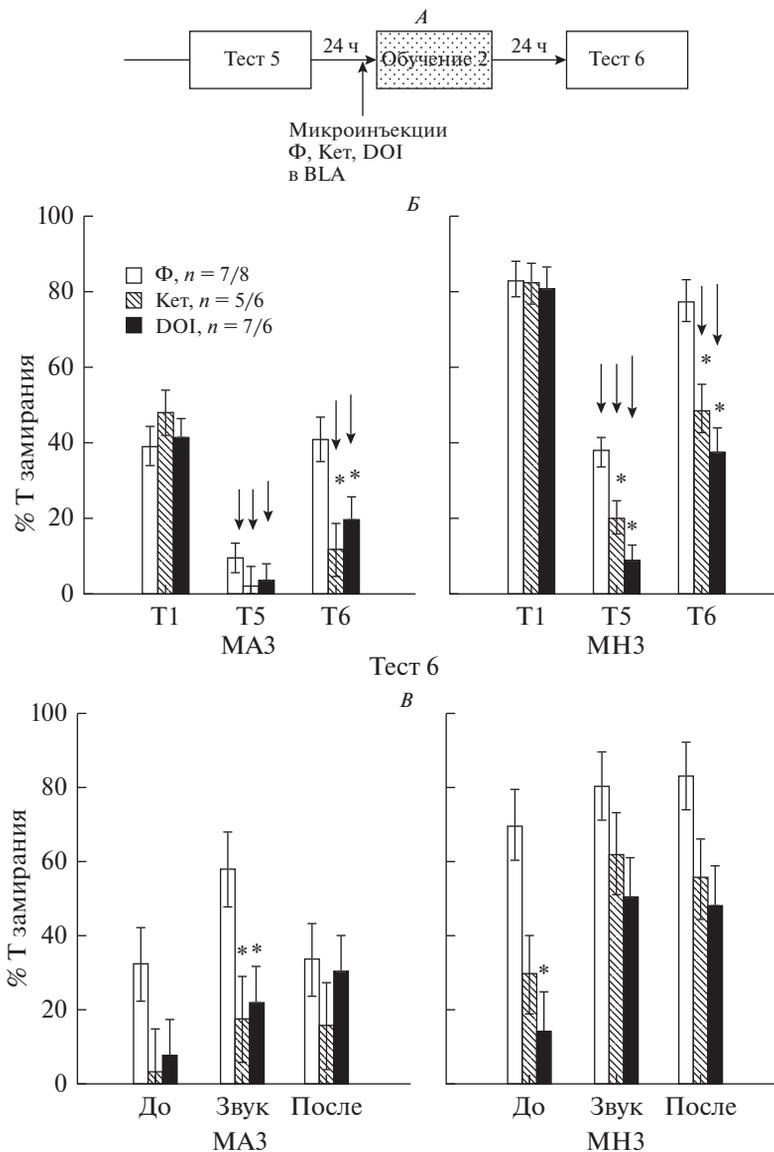
крыс” ( $F_{2,98} = 4.41, p = 0.015$ , Factorial ANOVA). В Тесте 3 (рис. 3А, В) в группе мало-замирающих крыс после введения кетансерина и DOI по сравнению с введением физиологического раствора наблюдался меньший процент времени замирания в ответ на звук (post hoc анализ). В группе многозамирающих слабое уменьшение времени замирания в Тесте 3 происходило только после введения DOI. В Тесте 4 (рис. 3А, Г) в группе многозамирающих значительное уменьшение времени замирания наблюдалось после введения DOI, слабое уменьшение (на уровне тенденции) происходило после введения кетансерина, в группе малозамирающих после введения препаратов не возникало различий с контролем, поскольку крысы этой группы хорошо угашали условнорефлекторный страх без каких-либо дополнительных воздействий. Таким образом, введение кетансерина и DOI в миндалину перед сеансами угашения приводило к ускорению угашения условнорефлекторного страха, причем это происходило не только в группе малозамирающих, но и у многозамирающих крыс, рефлекс которых с трудом поддается угашению.

**4. Влияние введения агониста и антагониста 5-HT 2A/C рецепторов в миндалину на повторное обучение.** Сопоставление суммарных данных по времени замирания крыс в Тесте 1, 5 и 6 показало (рис. 4А, Б), что существенное влияние на повторную выработку рефлекса оказывали фактор “препарат” (Repeated measures ANOVA,  $F_{2,111} = 10.8, p < 0.001$ ), “группа крыс” ( $F_{1,111} = 86.3, p < 0.001$ ), а также “номер теста” ( $F_{2,222} = 162.4, p < 0.001$ ), взаимодействия трех факторов не наблюдалось ( $F_{4,222} = 1.1, p = 0.359$ ). Введение кетансерина или DOI перед повторным обучением приводило к тому, что в Тесте 6 время замирания уменьшалось по сравнению с Тестом 1 (рис. 4А, Б) и оказывалось ниже, чем после введения физиологического раствора. В контрольной группе процент времени замирания в Тесте 6 не отличался от Теста 1 (Repeated measures ANOVA, Post hoc анализ, рис. 4А, Б). Подробный анализ времени замирания по интервалам времени в Тесте 6 показал (рис. 4В), что в группе малозамирающих животных на фоне препаратов в основном уменьшается время замирания в ответ на звук, в группе многозамирающих — преимущественно до действия звукового стимула (Factorial ANOVA, post hoc анализ). Таким образом, введение кетансерина и DOI в миндалину перед повторным обучением нарушало выработку условнорефлекторного страха.

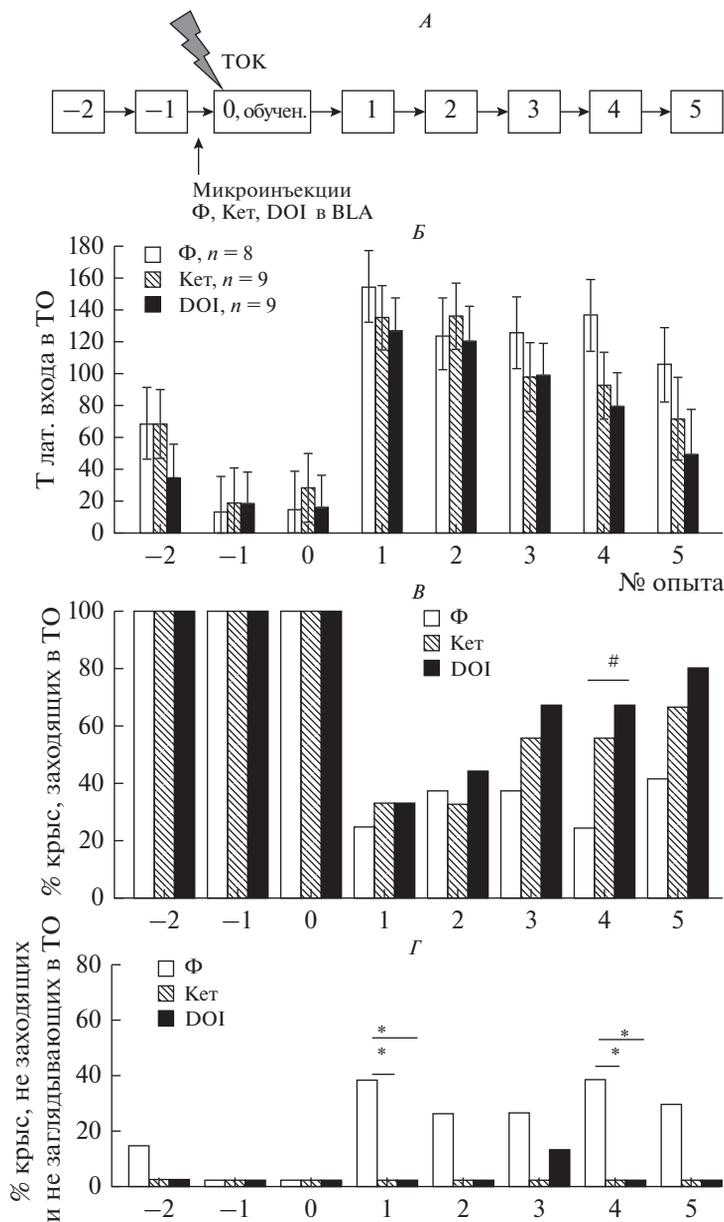
**5. Влияние введения агониста и антагониста 5-HT 2A/C рецепторов в миндалину на выработку и угашение рефлекса пассивного избегания.** Фактор “препарат” оказывал слабое воздействие на латентность входа в темный отсек камеры ( $F_{2,175} = 2.50, p = 0.085$ , Factorial ANOVA), наибольшие отличия были получены только при сопоставлении крыс с введением физиологического раствора и DOI ( $p = 0.059$ ). На следующий день после обучения число крыс, заходящих в темный отсек (рис. 5А, В), не отличалось после введения физиологического раствора (25%), кетансерина (33%) и DOI (33%), также не было отмечено различий и в латентности входов (рис. 5Б). Однако в первом опыте процент крыс, не входящих и не заглядывающих в темный отсек, т.е. с высоким качеством пассивного избегания, был выше у контрольных животных, чем у крыс после введения кетансерина ( $\chi^2 = 4.1, p = 0.043$ ) и DOI ( $\chi^2 = 4.1, p = 0.043$ , рис. 5Г). Эти данные свидетельствовали о слабом влиянии препаратов на выработку УРПИ. В четвертом и пятом опытах при угашении УРПИ крысы, которым при выработке вводили DOI, начинали в два раза чаще (67 и 80% соответственно) заходить в темный отсек, чем животные с введением физиологического раствора (25 и 42% соответственно, рис. 5А, В). Из-за небольшого количества животных различия в процентных соотношениях проявлялись на уровне тенденции ( $\chi^2 = 2.95, p = 0.086$ ). Крысы, которым при выработке вводили кетансерин, занимали промежуточное положение по скорости угашения между животными с физиологическим раствором и DOI (рис. 5А–В). В четвертом опыте при угашении



**Рис. 3.** Влияние введения кетансерина (Кет), DOI и физиологического раствора (Ф) в миндалину крыс на угашение условнорефлекторного страха. *A* – схема экспериментов, *B* – сопоставление Теста 1, 3 и 4 с помощью Repeated measures ANOVA, *B* – Тест 3, *Г* – Тест 4. По оси абсцисс на *B* – номер Теста, на *B* и *Г* – интервалы времени в опыте, До – до, Звук – во время, После – после действия звука. По оси ординат – процент времени замирания крыс. МА3 – группа мало замирающих крыс, МН3 – группа много замирающих крыс. Остальные обозначения как на рис. 2.



**Рис. 4.** Влияние введения кетансерина (Кет), DOI и физиологического раствора (Φ) в миндалину крыс на повторную выработку оборонительного рефлекса. А – схема экспериментов, Б – сопоставление процента времени замирания в Тестах 1, 5 и 6 (Repeated measures ANOVA), ↓ – снижение времени замирания по сравнению с Тестом 1, \* – значимые отличия в подгруппах с введением кетансерина или DOI по сравнению с подгруппой с физиологическим раствором в этом же тесте. В – Тест 6 (Factorial ANOVA). По оси абсцисс на Б – номер теста, Т1 – Тест 1, Т5 – Тест 5, Т6 – Тест 6, на В – интервалы времени в опыте, До – до, Звук – во время, После – после действия звука. По оси ординат – процент времени замирания. МА3 – группа мало замирающих крыс, МН3 – группа много замирающих крыс. Остальные обозначения как на рис. 2.



**Рис. 5.** Влияние введения кетансерина (Кет), DOI и физиологического раствора (Ф) в миндалину крыс на выработку и угашение УРПИ. *А* – схема экспериментов. *Б* – латентность входа в темный отсек камеры. *В* – число крыс (в процентах), заходящих в темный отсек. *Г* – число крыс (в процентах) не заходящих и не заглядывающих в темный отсек. По оси абсцисс – номер опыта, –2–1 – контрольные опыты до обучения, 0 – день выработки УРПИ, 1–5 опыты после обучения. # – тенденция ( $0.05 \leq p < 0.1$ ), \* – значимые отличия ( $p < 0.05$ ) – Nonparametric Statistics,  $2 \times 2$  Table.

УРПИ крысы с введением физиологического раствора чаще не заходили и не заглядывали в темный отсек, чем животные с введением агониста ( $\chi^2 = 4.1$ ,  $p = 0.043$ ) или антагониста ( $\chi^2 = 4.1$ ,  $p = 0.043$ , рис. 5Г). Таким образом, введение DOI перед выработкой УРПИ способствовало все же более быстрому угашению рефлекса и уменьшало длительность его сохранения.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Введение агониста 5-НТ 2А/С рецепторов DOI в ВЛА приводило к специфическому эффекту в тестах на тревожность: увеличению двигательной активности, увеличению времени нахождения в авersiveм отсеке ТСК, снижению латентности выходов в открытые рукава ТПЛ, т.е. оказывало анксиолитическое и двигательнo-активирующее действие. Вместе с тем снижалась латентность входа в закрытый рукав из открытого в ТПЛ, т.е. увеличивалось паникоподобное поведение. Отмечалось увеличение агрессивноподобного поведения по отношению к экспериментатору. Введение антагониста кетансерина в наших опытах практически не оказывало влияния на поведение крыс в тестах на тревожность. Согласно данным литературы введение других агонистов 5-НТ 2А/С рецепторов (mCPP, IL-639, МК212) в миндалину дает анксиогенный эффект [20, 21], но может оказывать анксиолитическое действие при введении в гиппокамп или при системном введении [29]. Показано, что системное введение DOI мышам, нокаутным по гену белка TLX, вызывало увеличение частоты и длительности атак в тесте резидент-интродер, т.е. приводило к увеличению агрессивности, введение кетансерина имело обратный эффект [31]. Есть данные, что другой антагонист 5-НТ рецепторов (ритансерин) сам по себе, так же как кетансерин в наших опытах, не оказывал влияния на поведение животных в ПКЛ при введении в миндалину [19], но мог блокировать действие агониста. Сложный эффект от введения DOI в наших опытах может быть связан с тем, что 5-НТ 2А/С рецепторы располагаются как на основных проекционных, так и ГАМК-ергических интернейронах миндалины [14, 24], т.е. агонист способен активировать функционально разные группы клеток. В исследованиях с применением patch-clamp методики *in vitro* показано увеличение гиперполяризации мембраны пирамидных нейронов ВЛА после инъекции агониста  $\alpha$ -m5HT [32]. Такая гиперполяризация основных клеток миндалины может приводить к анксиолитическому эффекту в поведении животных. В литературе появление паникоподобного поведения связывают с активностью серого околводопроводного вещества [6]. Появление паникоподобного поведения после инъекции DOI в миндалину можно объяснить ее тесными связями с серым околводопроводным веществом, активация которого могла вызывать такую реакцию. Ранее отмечалось антипаническое действие при введении в миндалину агониста 5-НТ 1А рецепторов [13, 33].

Влияние инъекций антагониста кетансерина было обнаружено при выработке и угашении условнорефлекторного страха. Введение кетансерина приводило к уменьшению проявления страха в виде замирания, ускоряло его угашение и препятствовало повторной выработке. Важно отметить, что введение кетансерина было способно ускорить угашение у многозамирающих крыс, у которых рефлекс отличается прочностью и с трудом поддается угашению. В литературе имеются сведения, подтверждающие наши результаты, но полученные на других поведенческих моделях. Локальное введение в миндалину антагониста 5-НТ 2А рецепторов (MDL) предотвращает возникновение оборонительного и подчиненного поведения после социального поражения у хомяков, т.е. также препятствует выработке условнорефлекторного страха [23]. Другой антагонист (SB242084) 5-НТ 2С рецепторов препятствовал выработке тормозного избегания в Т-образном лабиринте [21]. Микроинъекции кетансерина в ВЛА приводили к уменьшению условнорефлектор-

ной аверсии на место, т.е. уменьшали проявление приобретенного страха [22]. Основой такого уменьшения в проявлении и приобретении страха под влиянием кетансерина может быть снижение активации пирамидных клеток VLA, которые возбуждались за счет 2A/C рецепторов. Показано, что при системном введении кетансерина происходило уменьшение количества c-Fos иммунореактивных клеток (числа активирующихся нейронов) в VLA и в медиальной префронтальной коре в аверсивной ситуации [34]. Можно предположить, что в случае введения антагониста кетансерина, по-видимому, мы имели дело со снижением уровня страха, которое проявлялось в уменьшении уровня замирания и затруднении при повторном обучении.

Введение DOI в миндалину в нашей работе оказывало формально сходное с кетансерином действие на поведение крыс в условнорефлекторной ситуации. Инъекция DOI приводила к уменьшению проявления условнорефлекторного страха в виде замирания, ускоряла его угашение и препятствовала выработке рефлекса. Инъекция DOI в миндалину способствовала возникновению менее прочного навыка при выработке УРПИ, что проявлялось в более быстром его угашении. В литературе имеются факты как противоречащие, так и подтверждающие наши данные. С одной стороны, известно, что локальная инъекция агониста 5-НТ 2A рецепторов (ТСВ) в VLA облегчала приобретение условнорефлекторного поражения у сирийских хомяков [23], а введение агониста МК-212 способствовало выработке тормозного избегания [21], т.е. в этих работах агонисты улучшали выработку оборонительных рефлексов. При системном введении агонистов также были получены данные о том, что активность 5-НТ 2A рецепторов способствует консолидации памяти о страхе [16]. С другой стороны, при локальной инъекции агониста 5-НТ2 рецепторов ( $\alpha$ -m5HT) в миндалину описано уменьшение длительности тонической иммобильности у морских свинок, возникающей при резком надавливании на их тело, т.е. пассивно-оборонительной реакции на сильное воздействие [35], что совпадает с нашими данными об уменьшении проявления страха в виде замирания. Наши результаты об ускорении угашения условнорефлекторного страха при локальной микроинъекции агониста в миндалину совпадают с данными литературы, полученными при системном введении другого агониста ТСВ-2 [16].

Для объяснения полученных нами данных при введении агониста 5-НТ 2A/C рецепторов можно привлечь сведения, имеющиеся в литературе [36], согласно которым замирание возникает при удаленной угрозе животному и отражает умеренный страх. При близкой угрозе для жизни животное предпочитает либо быстрое убежание, либо агрессию и нападение. Возможно, что при используемых нами дозах агониста при увеличении страха крысы переходили на другой “уровень защиты”, а именно к активным двигательным реакциям. Подтверждают это предположение наши данные об увеличении паникоподобного и агрессивноподобного поведения, двигательной активности крыс после введения DOI. Кроме того, известно, что при введении агониста DOI в VLA чаще возникают импульсивные ответы в тесте дифференцировки по месту (5-choice serial reaction time task), т.е. уменьшается торможение двигательных реакций [28]. Показано, что при введении агониста 5-НТ 2 рецепторов (mCPP) в миндалину увеличивалась экспрессия mPНК генов белка c-Fos в лимбических структурах и медиальной префронтальной коре, т.е. происходила активация большого числа структур мозга [20].

В нашей работе была обнаружена различная чувствительность у крыс с разным проявлением страха к вводимым препаратам. В Тесте 2 только у группы малозамирающих уменьшалось проявление страха в виде замирания после введения кетансерина и DOI. Ранее также наблюдали уменьшение проявления условнорефлекторного страха в виде замирания только у группы малозамирающих при введении в миндалину лигандов D1 и D2 рецепторов, 5-НТ 1A рецепторов и бета-адреноре-

цепторов [12, 26, 37]. Возможно, для уменьшения замирания у многозамирающих крыс требуется воздействие сразу на несколько типов рецепторов, а монотерапия оказывается неэффективной. Ранее при изучении поведения крыс с другими индивидуальными особенностями (с разным уровнем импульсивности) также была показана разная чувствительность к системному введению агониста (DOI) и антагониста (кетансерина) 5-НТ 2А/С рецепторов у “импульсивных” и “самоконтрольных” крыс [38]. В целом эти данные свидетельствуют о том, что уровень серотонинергической передачи через 5-НТ 2А/С рецепторы в эмоциогенных структурах мозга тесно связан с возникновением различных индивидуально-групповых особенностей поведения.

## ВЫВОДЫ

1. Введение агониста 5-НТ 2А/С рецепторов DOI (1 мкг/0.5 мл) в базолатеральную миндалину увеличивало двигательную активность, оказывало анксиолитическое действие, приводило к паникоподобному поведению крыс, судя по анализу поведения животных в “темно-светлой камере”, “приподнятом крестообразном лабиринте” и “Т-образном приподнятом лабиринте”. Введение антагониста 5-НТ 2А/С рецепторов кетансерина (0.5 мкг/0.5 мл) не оказывало существенного влияния на тревожное поведение крыс.

2. Введение антагониста кетансерина и агониста DOI 5-НТ 2А/С рецепторов в базолатеральную миндалину перед напоминанием приводило к уменьшению проявления условнорефлекторного страха в виде замирания только у крыс с низким уровнем замирания.

3. Введение антагониста кетансерина и агониста DOI 5-НТ 2А/С рецепторов в базолатеральную миндалину перед сеансами угашения ускоряло угашение условнорефлекторного страха у крыс как с низким, так и высоким уровнем замирания.

4. Введение антагониста кетансерина и агониста DOI 5-НТ 2А/С рецепторов в базолатеральную миндалину перед повторным обучением препятствовало выработке условнорефлекторного страха в виде замирания.

5. Предполагается, что введение кетансерина способствовало снижению уровня страха, в то время как введение DOI, наоборот, его увеличивало и приводило к переходу животного на другой “уровень защиты”, проявляющийся в увеличении активных двигательных реакций на угрожающий стимул.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания ИВНД и НФ РАН по теме “Фундаментальные нейробиологические механизмы поведения, памяти и обучения в норме и при патологии”, номер государственной регистрации АААА-А17-117-92040002-6.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bush D.E., Sotres-Bayon F., LeDoux J.E.* Individual differences in fear: isolating fear reactivity and fear recovery phenotypes. *J. Trauma Stress.* 20(4): 413–422. 2007.
2. *Lehner M., Taracha E., Maciejak P., Szyndler J., Skorzewska A., Turzynska D., Sobolewska A., Wislowska-Stanek A., Hamed A., Bidzinski A., Plaznik A.* Colocalisation of c-Fos and glucocorticoid receptor as well as of 5-HT (1A) and glucocorticoid receptor immunoreactivity-expressing cells in the brain structures of low and high anxiety rats. *Behav. Brain Res.* 200(1): 150–159. 2009.
3. *Павлова И.В., Рысакова М.П.* Проявление тревожности крыс Вистар при выработке условнорефлекторного страха. *Журн. высш. нерв. деят.* 65(6): 719–735. 2015. [*Pavlova I.V., Rysakova M.P.* The manifestation of the anxiety during fear conditioning in Wistar rats. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat.* Im. I. P. Pavlova. 65(6): 720–34. 2015. (In Russ.)].

4. *Le Doux J.E.* The amygdale. *Curr. Biol.* 17(20): 868–874. 2007.
5. *Vertes R.P.A.* PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 312(4): 643–668. 1991.
6. *Graeff F.G., Silveira M.C., Nogueira R.L., Audi E.A., Oliveira R.M.* Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic. *Behav. Brain Res.* 58 (1–2): 123–131. 1993.
7. *Zangrossi H.J., Viana M.B., Zanoveli J., Bueno C., Nogueira R.L., Graeff F.G.* Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the rat elevated T-maze. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 25(7–8): 637–645. 2001.
8. *Kawahara H., Yoshida M., Yokoo H., Nishi M., Tanaka M.* Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdale and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis. *Neurosci. Lett.* 162(1–2): 81–84. 1993.
9. *Yokoyama M., Suzuki T., Sato T., Maruta S., Watanabe S., Miyaoka H.* Amygdalic levels of dopamine and serotonin rise upon exposure to conditioned fear stress without elevation of glutamate. *Neurosci. Lett.* 379(1): 37–41. 2005.
10. *Mo B., Feng N., Renner K., Forster G.* Restraint stress increases serotonin release in the central nucleus of the amygdale via activation of corticotrophin-releasing factors receptors. *Brain Res. Bul.* 76(5): 493–498. 2008.
11. *Bauer E.P.* Serotonin in fear conditioning processes. *Behav. Brain Res.* 277: 68–77. 2015.
12. *Павлова И.В., Рысакова М.П.* Влияние введения лигандов рецепторов серотонина 5-HT<sub>1A</sub> в миндалину на поведение крыс с разным проявлением условнорефлекторного страха. *Журн. высш. нерв. деят.* 66(6): 710–724. 2016. [*Pavlova I.V., Rysakova M.P.* The influence of the serotonin receptors 5-HT<sub>1A</sub> ligands infusion in the amygdale on behavior of rats with different manifestation of conditioned fear. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I.P. Pavlova.* 66(6): 710–724. 2016. (In Russ.)].
13. *Rysakova M.P., Pavlova I.V., Broshevitskaya N.D.* Intra-amygdala injection of 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligands produces differential effects on the behavior of high- and low-anxiety Wistar rats. *Res. Neurosci.* 6(1): 11–20. 2017. <https://doi.org/10.5923/j.neuroscience.20170601.03>
14. *McDonald A.J., Mascagni F.* Neuronal localization of 5-HT type 2A receptor immunoreactivity in the rat basolateral amygdale. *Neuroscience.* 146(1): 306–320. 2007.
15. *Harvey J.A.* Role of the serotonin 5-HT (2A) receptor in learning. *Learn. Mem.* 10(5): 355–362. 2003.
16. *Zhang G., Asgeirsdottir H.N., Cohen S.J., Munchow A.H., Barrera M.P., Stackman R.W.J.* Stimulation of serotonin 2A receptors facilitates consolidation and extinction of fear memory in C57BL/6J mice. *Neuropharmacology.* 64: 403–413. 2013.
17. *Harvey M.L., Swallows C.L., Cooper M.A.* A double dissociation in the effects of 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors on the acquisition and expression of conditioned defeat in Syrian hamsters. *Behav. Neurosci.* 126(4): 530–537. 2012.
18. *Harada K., Yamaji T., Matsuoka N.* Activation of the serotonin 5-HT 2C receptor is involved in the enhanced anxiety in rats after single-prolonged stress. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 89: 11–16. 2008.
19. *de Mello Cruz A.P., Pinheiro G., Alves S.H., Ferreira G., Mendes M., Faria L., Macedo C.E., Motta V., Landeira-Fernandez J.* Behavioral effects of systemically administered MK-212 are prevented by ritanserin microinfusion into the basolateral amygdale of rats exposed to the elevated plus-maze. *Psychopharmacology.* 182(3): 345–354. 2005.
20. *Campbell B.M., Merchant K.M.* Serotonin 2C receptors within the basolateral amygdale induce acute fear-like responses in an open-field environment. *Brain Res.* 993(1–2): 1–9. 2003.
21. *Vicente M.A., Zangrossi H.* Involvement of 5-HT<sub>2C</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> receptors of the basolateral nucleus of the amygdale in the anxiolytic effect of chronic antidepressant treatment. *Neuropharmacology.* 79: 127–135. 2014.
22. *Macedo C.E., Martinez R.C., Albrechet-Souza L., Molina V.A., Brandao M.L.* 5-HT<sub>2</sub>- and D<sub>1</sub>-mechanisms of the basolateral nucleus of the amygdale enhance conditioned fear and impair unconditioned fear. *Behav. Brain Res.* 177(1): 100–108. 2007.
23. *Clinard C.T., Bader L.R., Sullivan M.A., Cooper M.A.* Activation of 5-HT<sub>2A</sub> receptors in the basolateral amygdale promotes defeat-induced anxiety and the acquisition of conditioned defeat in Syrian hamsters. *Neuropharmacology.* 90: 102–112. 2015.
24. *Bombardi C.* Neuronal localization of the 5-HT<sub>2</sub> receptor family in the amygdaloid complex. *Front Pharmacol.* 5(68): 1–10. 2014.
25. *Moutkine I., Quentin E., Guiard B.P., Maroteaux L., Doly S.* Heterodimers of serotonin receptor subtypes 2 are driven by 5-HT<sub>2C</sub> protomers. *J. Biol. Chem.* 292 (15): 6352–6368. 2017.
26. *Павлова И.В., Рысакова М.П., Сергеева М.И.* Влияние блокады D<sub>1</sub> и D<sub>2</sub> рецепторов в базолатеральной миндалине на поведение крыс с высоким и низким уровнем тревожности и страха. *Журн. высш. нерв. деят.* 65(4): 471–485. 2015. [*Pavlova I.V., Rysakova M.P., Sergeeva M.I.* Influence of D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> receptor blockade in basolateral amygdala on behavior of rats

- with high or low levels of anxiety and fear. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I. P. Pavlova.* 65(4): 471–485. 2015. (In Russ.)].
27. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. Acad. Press. 1998.
  28. *Hadamitzky M., Koch M.* Effects of acute intra-cerebral administration of the 5-HT (2A/C) receptor ligands DOI and ketanserin on impulse control in rats. *Behav. Brain Res.* 204(1): 88–92. 2009.
  29. *Masse F., Petit-Demouliere B., Dubois I., Hascoet M., Bourin M.* Anxiolytic-like effects of DOI microinjections into the hippocampus (but not the amygdala nor the PAG) in the mice four plates test. *Behav. Brain Res.* 188(2): 291–297. 2008.
  30. *Monassi C.R., Menescal-De-Oliveira L.* Serotonin 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the periaqueductal gray matter differentially modulate tonic immobility in guinea pig. *Brain Res.* 1009 (1-2): 169–180. 2004.
  31. *Juárez P., Valdovinos M.G., May M.E., Lloyd B.P., Couppis M.H., Kennedy C.H.* Serotonin 2A/C receptors mediate the aggressive phenotype of TLX gene knockout mice. *Behav. Brain Res.* 256: 354–361. 2013.
  32. *McCool B.A., Christian D.T., Fetzer J.A., Chappell A.M.* Lateral/basolateral amygdala serotonin type-2 receptors modulate operant self-administration of a sweetened ethanol solution via inhibition of principal neuron activity. *Front. Integr. Neurosci.* 8:5. 2014. <https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00005eCollection>
  33. *Strauss C.V.A., Vicente M.A., Zangrossi H.J.* Activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the rat basolateral amygdala induces both anxiolytic and antipanic-like effects. *Behav. Brain Res.* 246: 103–110. 2013.
  34. *Hervig M.E., Jensen N.C.H., Rasmussen N.B., Rydbirk R., Olesen M.V., Hay-Schmidt A., Pakkenberg B., Aznar S.* Involvement of serotonin 2A receptor activation in modulating medial prefrontal cortex and amygdala neuronal activation during novelty-exposure. *Behav. Brain Res.* 326: 1–12. 2017.
  35. *Leite-Panissi C.R., Ferrarese A.A., Terzian A.L., Menescal-de-Oliveira L.* Serotonergic activation of the basolateral amygdala and modulation of tonic immobility in guinea pig. *Brain Res. Bull.* 69(4): 356–364. 2006.
  36. *Blanchard D.C., Blanchard R.J.* Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. *Annu. Rev. Psychol.* 39: 43–68. 1988.
  37. *Павлова И.В., Рысакова М.П.* Роль бета<sub>1,2</sub>-адренорецепторов миндалины в поведении крыс с разным уровнем замирания при условнорефлекторном страхе. *Журн. высш. нерв. деят.* 68(1): 1–14. 2018. [*Pavlova I.V., Rysakova M.P.* Role of amygdala beta<sub>1,2</sub> – adrenoceptors in the behavior of rats with different freezing level during fear condition. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I. P. Pavlova.* 68(1): 1–14. 2018. (In Russ.)].
  38. *Зайченко М.И., Мержанова Г.Х., Ванециан Г.Л.* Влияние агониста и антагониста 5HT<sub>2</sub> рецепторов на поведение крыс, различающихся по выбору ценности подкрепления. *Журн. высш. нерв. деят.* 63(2): 246–255. 2013. [*Za?chenko M.I., Merzhanova G.Kh., Venetisian G.L.* Effect of agonists and antagonists of 5-HT<sub>2</sub> receptors on rats with different choice of reinforcement value. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I.P. Pavlova.* 63(2): 246–55. 2013. (In Russ.)].

### **Influence of Serotonin 5-HT 2A/C Receptor Agonist and Antagonist Injection in Amygdala on Anxiety and Fear Conditioning in Rats**

**I. V. Pavlova<sup>a,\*</sup>, N. D. Broshevitskaya<sup>a</sup>, M. P. Rysakova<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia*

\**e-mail: pavlovm@mail.ru*

The role of amygdala 5-HT 2A/C receptors in the acquisition, expression, and extinction of conditioned fear as well as in anxiety was studied. Injections of 5-HT 2A/C antagonist (ketanserin, 0.5 µg/0.5 µL) into basolateral amygdala impaired fear expression in the form of freezing and its acquisition, but had no effect on anxiety. Injection of 5-HT 2A/C agonist (DOI, 1 µg/0.5 µL) caused panic-like behavior, increased the locomotor activity but decreased anxiety and fear expression in the form of freezing. Both agonist and antagonist facilitated fear extinction in high-freezing rats. These results suggest that 5-HT 2A/C serotonin receptors in amygdala play an important role in the expression and retention of conditioned fear.

*Keywords:* amygdala, 5-HT 2A/C receptors, agonist, antagonist, anxiety, fear conditioning

## ЦИТИРОВАТЬ:

Павлова И.В., Брошевицкая Н.Д., Рысакова М.П. Влияние микроинъекций агониста и антагониста рецепторов серотонина (5-НТ 2А/С) в миндалину крыс на тревожное поведение и условнорефлекторный страх. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 105(7): 861–878.

DOI: 10.1134/S0869813919070070

## TO CITE THIS ARTICLE:

Pavlova I.V., Broshevitskaya N.D., Rysakova M.P. Influence of Serotonin 5-HT 2A/C Receptor Agonist and Antagonist Injection in Amygdala on Anxiety and Fear Conditioning in Rats. Russian Journal of Physiology. 105(7): 861–878.

DOI: 10.1134/S0869813919070070