



УДК 612.825

EDN BVYESF

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-4-457-465>

Влияние нитрергических сигналов на выброс серотонина в медиальной префронтальной коре крыс

М. А. Сусорова ¹, Н. Б. Саульская¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Мария Андреевна Сусорова, SPIN-код: 6912-7116, e-mail: burmakinama@infran.ru

Наталья Борисовна Саульская, SPIN-код: 2293-7451, Scopus AuthorID: 6602537765, ResearcherID: [JVZ-9548-2024](https://orcid.org/0000-0003-3349-2235), ORCID: 0000-0003-3349-2235, e-mail: saulskayanb@infran.ru

Для цитирования: Сусорова, М. А., Саульская, Н. Б. (2023) Влияние нитрергических сигналов на выброс серотонина в медиальной префронтальной коре крыс. *Интегративная физиология*, т. 4, № 4, с. 457–465. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-4-457-465> EDN BVYESF

Получена 27 октября 2023; прошла рецензирование 17 декабря 2023; принята 25 декабря 2023.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030), тема 0134-2019-0004.

Права: © М. А. Сусорова, Н. Б. Саульская (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Оксид азота (NO) участвует в модуляции активности ряда нейротрансмиттерных систем мозга. Вместе с тем эффекты NO на активность серотониновой системы медиальной префронтальной коры (мПК) остаются недостаточно изученными. Ранее нами было показано, что экзогенная нитрергическая стимуляция мПК локальными введениями донора NO диэтиламин моноата (DEA, 0,1–1 мМ) дозозависимо увеличивает уровень внеклеточного серотонина в этой области. Данная работа посвящена изучению эффектов эндогенной нитрергической стимуляции мПК на высвобождение серотонина в этом отделе коры, а также выяснению влияния более значительной экзогенной нитрергической стимуляции мПК введением 3 мМ DEA на этот показатель. В экспериментах, проведенных на крысах линии Спрег-Доули методом внутримозгового микродиализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии, было показано, что диализная инфузия в мПК субстрата NO-синтазы L-аргинина (0,1 мМ, 1 мМ) (эндогенный эффект) сопровождается дозозависимым подъемом уровня внеклеточного серотонина в этой корковой области. Введение 5 мМ L-аргинина в мПК увеличивало этот показатель в той же степени, что и введение 1 мМ этого препарата. При этом введение в мПК 3 мМ DEA вызывало первоначальный подъем уровня внеклеточного серотонина в мПК, за которым следовало снижение этого показателя ниже фоновых значений. Результаты свидетельствуют, что эндогенная нитрергическая стимуляция мПК оказывает активационное действие на серотониновую нейротрансдукцию в этой области, что выражается в увеличении уровня внеклеточного серотонина в мПК в ответ на введение L-аргинина. Значительная экзогенная нитрергическая стимуляция мПК введением 3 мМ DEA оказывает двухфазный эффект на активность серотониновой системы, первоначально повышая, а затем быстро снижая уровень внеклеточного серотонина в мПК.

Ключевые слова: медиальная префронтальная кора, внутримозговой микродиализ, серотонин, оксид азота, L-аргинин

Effect of nitrenergic signals on serotonin release in the rat medial prefrontal cortex

M. A. Susorova ¹, N. B. Saulskaya¹

¹Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences,
6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Mariya A. Susorova, SPIN: 6912-7116, e-mail: burmakinama@infran.ru

Natalia B. Saulskaya, SPIN: 2293-7451, Scopus AuthorID: 6602537765, ResearcherID: JYZ-9548-2024, ORCID: 0000-0003-3349-2235, e-mail: saulskayanb@infran.ru

For citation: Susorova, M. A., Saulskaya, N. B. (2023) Effect of nitrenergic signals on serotonin release in the rat medial prefrontal cortex. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 4, pp. 457–465. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-4-457-465> EDN BVYSEF

Received 27 October 2023; reviewed 17 December 2023; accepted 25 December 2023.

Funding: This study was supported by the State Program 47 GP 'Scientific and Technological Development of the Russian Federation' (2019–2030), topic 0134-2019-0004.

Copyright: © M. A. Susorova, N. B. Saulskaya (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Nitric oxide (NO) is involved in modulating the activity of several neurotransmitter systems in the brain. However, the effects of NO on serotonergic activity of the medial prefrontal cortex (mPFC) remain poorly understood. We have previously shown that exogenous nitrenergic stimulation of the mPFC by local administration of the NO donor diethylamine nonoate (DEA, 0.1–1 mM) dose-dependently increases extracellular serotonin levels in this area. The purpose of the work was to study the effects of endogenous nitrenergic stimulation of the mPFC on serotonin release in this cortical region, and to determine the effect of more intense exogenous nitrenergic stimulation of the mPFC on serotonin release by introducing 3 mM DEA. In Sprague-Dawley rats by means of *in vivo* microdialysis and high-performance liquid chromatography, we showed that intra-mPFC infusion of L-arginine (0.1 mM, 1 mM), the NO synthase substrate, produces a dose-dependent increase in extracellular serotonin level in this area. The intra-mPFC infusion of 5 mM L-arginine increases extracellular serotonin to the same extent as the infusion of 1 mM L-arginine. The intra-mPFC administration of 3 mM DEA causes an initial increase of the mPFC extracellular serotonin followed by a decrease of serotonin level below the baseline. The present data indicate that endogenous nitrenergic stimulation of the mPFC activates serotonin neurotransmission in this area, as evidenced by the L-arginine-induced increase in mPFC serotonin levels. Strong exogenous nitrenergic stimulation of mPFC by administration of 3 mM DEA has a biphasic effect on the activity of the mPFC serotonin system, initially increasing and then rapidly decreasing the level of extracellular serotonin.

Keywords: medial prefrontal cortex, *in vivo* intracranial microdialysis, serotonin, nitric oxide, L-arginine

Введение

Оксид азота (NO) является сигнальной молекулой и, обладая высокой биологической активностью, участвует в широком спектре физиологических процессов, таких как нейротрансдукция, синаптическая пластичность, регуляция тонуса сосудов и др. (Chachlaki, Prevot 2020). NO продуцируется из аминокислоты L-аргинина под действием фермента NO-синтазы, который имеет три изоформы (Garthwaite 2018). Нейронная NO-синтаза (nNOS) является основной изоформой этого фермента, присутствующей в ЦНС, а клетки, экспрессирующие nNOS, обнаружены во многих отделах головного мозга (Chachlaki, Prevot 2020), в том числе в мПК (Gabbot, Vacon 1995). Основными источниками

NO в мПК являются NO-продуцирующие ГАМК-ергические интернейроны (Gabbot, Vacon 1995) и волокна серотонинергических нейронов ядер шва, в которых наблюдается высокая соэкспрессия серотонина и nNOS (Simpson et al. 2003), что создает предпосылки для NO-серотонинового взаимодействия в мПК. Такое взаимодействие продемонстрировано в нескольких областях мозга, однако эффекты NO на выброс серотонина противоречивы. Так, показано, что эндогенный NO увеличивает уровень серотонина в медиальной преоптической области (Lorrain, Hull 1993) и в голубом пятне у крыс (Sinner et al. 2001), но снижает его в гиппокампе (Wegener et al. 2000). При этом влияние локальных нитрергических сигналов на высвобождение серотонина в мПК на данный момент изучено

фрагментарно. В наших предыдущих работах для нитрергической активации мы использовали донор NO — диэтиламин ноноат (DEA), при введении раствора которого происходит расщепление его молекулы с высвобождением NO. По данным, полученным в ходе таких экспериментов, экзогенная нитрергическая стимуляция мПК введением DEA (0,1–1 мМ) дозозависимо увеличивает уровень внеклеточного серотонина в этой области только в самом начале введения препарата (Saulskaya et al. 2022). При длительном введении 1 мМ DEA его активационный эффект на выброс серотонина в мПК трансформируется в тормозной (Saulskaya et al. 2021). Более того, при последовательном введении в мПК DEA в нарастающих концентрациях (0,1–0,5 мМ) уровень серотонина в мПК повышается, но дальнейшее увеличение концентрации DEA до 2,5 мМ, напротив, сопровождается его снижением (Saulskaya et al. 2022). Эти результаты поставили ряд вопросов. Во-первых, неизвестно, реализуются ли такие же закономерности под влиянием эндогенных нитрергических сигналов мПК. Во-вторых, непонятно, является ли падение уровня внеклеточного серотонина в мПК при введении 2,5 мМ DEA результатом десенситизации мишеней NO, например, растворимой гуанилатциклазы (pГЦ) (Sayed et al. 2007), вследствие длительного введения этого препарата в других концентрациях, или же высокие концентрации экзогенного NO способны быстро запускать торможение выброса серотонина в мПК. Возможной причиной может быть угнетение экзоцитоза вследствие S-нитрозилирования комплексина (Robinson et al. 2018), белка экзоцитоза, высокими концентрациями NO. Работа посвящена выяснению этих вопросов. С этой целью были изучены эффекты введений в мПК предшественника NO L-аргинина (0,1, 1 и 5 мМ), а также влияние введения в мПК 3 мМ DEA на уровень внеклеточного серотонина в этой области.

Актуальность этих исследований определяется увеличивающимся объемом данных о роли NO-серотонинового взаимодействия в ЦНС в регуляции ответа организма на стресс в норме и при психопатологии (Sun et al. 2022) и малой изученностью закономерностей NO-серотонинового взаимодействия в мПК, области, играющей важную роль в контроле страха и связанных с ним функций (Asok et al. 2019).

Методика

В работе использовали крыс-самцов линии Спрег-Доули из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» (Санкт-Петербург). Все эксперименты с использованием крыс соответствовали международным этическим стандартам гуманного обращения с экспериментальными животными.

Работа выполнена при помощи методов прижизненного внутримозгового микродиализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией. Крысам под общим наркозом в правую мПК имплантировали диализные канюли (Saulskaya, Sudorgina 2016) и через день начали микродиализные эксперименты. Фармакологические препараты добавляли в искусственную спинномозговую жидкость (ИСМЖ: 147 мМ NaCl, 4 мМ KCl, 2 мМ CaCl₂, 1 мМ MgCl₂, pH 7,0), используемую для перфузии мПК. В начале эксперимента собрали 5 фоновых порций диализата, по 15 мкл каждая, а затем животных разделили на 4 группы. Крысам групп «0,1 мМ R» (n = 6), «1 мМ R» (n = 6) и «5 мМ R» (n=6) в мПК вводили субстрат NO-синтазы L-аргинин (R) в концентрациях 0,1 мМ, 1 мМ и 5 мМ, соответственно, и собрали 4 порции диализата. Животным группы «3 мМ DEA» (n = 8) в мПК вводили донор NO диэтиламин ноноат (DEA, 3 мМ, «Sigma», США), а затем собрали 7 порций диализата (рис. 1).

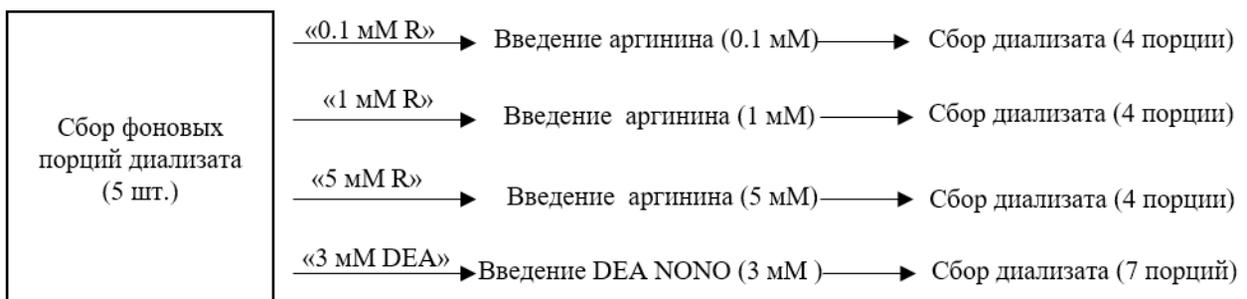


Рис. 1. Схема эксперимента. «0,1 мМ R», «1 мМ R», «5 мМ R», «3 мМ DEA» — названия групп животных

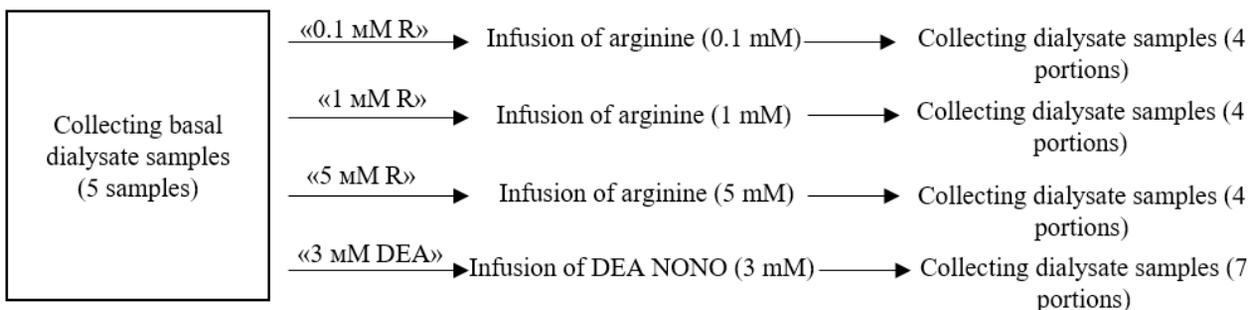


Fig. 1. Scheme of the experiment. '0.1 mM R', '1 mM R', '5 mM R', '3 mM DEA' — names of animal groups

На протяжении всего эксперимента диализат собирали каждые 15 минут и анализировали изменение уровня внеклеточного серотонина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, как описано ранее (Saulskaya et al. 2020). После завершения эксперимента животных подвергли эвтаназии (Saulskaya et al. 2021) и извлекли мозг для морфологического контроля. В статистику включили крыс с локализацией канюль в мПК.

Статистическую обработку данных производили при помощи пакета SigmaStat (3.0). Данные представили как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Выборки проверяли на нормальность распределения по методу Колмогорова-Смирнова. Для сравнения эффектов введения фармакологических препаратов на уровень внеклеточного серотонина в мПК использовали дисперсионный анализ для повторяющихся замеров (F-критерий) с t-критерием Бонферрони для множественного апостериорного сравнения в случае, если данные соответствовали нормальному распределению. Если данные не соответствовали нормальному распределению, использовали непараметрический дисперсионный анализ для повторяющихся замеров Фридмана (хи-квадрат) и критерий Ньюмана-Килса для апостериорного анализа. Для сравнения динамики изменений уровня внеклеточного серотонина у животных с введениями разных концентраций аргинина использовали двухфакторный дисперсионный анализ с повторяющимися замерами и критерий Тьюки для апостериорного анализа. Парное сравнение среднего фонового уровня внеклеточного серотонина с его средним уровнем за весь период введения каждого препарата осуществляли с помощью U-критерия Манна — Уитни, если данные не соответствовали нормальному распределению, и t-критерия Стьюдента, если соответствовали. Межгрупповое сравнение средних уровней внеклеточного серотонина за весь период вве-

дения разных концентраций препарата осуществляли методом Краскела — Уоллеса (H-критерий).

Результаты

Введение субстрата NO-синтазы L-аргинина в концентрации 0,1 мМ в мПК животным группы «0,1 мМ R» не вызывало значимых изменений уровня внеклеточного серотонина в мПК в отдельных временных точках относительно фонового уровня перед введением ($F_{(9,44)} = 0,8$, $p = 0,6$) (рис. 2). Однако средний уровень внеклеточного серотонина за весь период введения препарата у крыс группы «0,1 мМ R» был достоверно выше собственных фоновых значений ($t = 2,48$, $p = 0,016$) (рис. 3). Введение 1 мМ аргинина животным группы «1 мМ R» сопровождалось повышением уровня внеклеточного серотонина в мПК (Хи-квадрат = 41,96, $p < 0,001$) (рис. 1) с максимальным подъемом $137 \pm 8\%$ в первые 15 минут введения по отношению к собственным фоновым значениям, а также повышением среднего уровня серотонина (за весь период введения 1 мМ аргинина) по сравнению с фоновыми значениями ($U = 889$, $p < 0,001$) (рис. 3). Введение 5 мМ аргинина крысам группы «5 мМ R» вызывало рост уровня внеклеточного серотонина в мПК ($F_{(9,45)} = 8,8$, $p < 0,001$) (рис. 2) с максимальным подъемом $125 \pm 6\%$ в первые 15 минут введения. Средний уровень серотонина за весь период введения 5 мМ аргинина у крыс группы «5 мМ R» также был выше собственного фонового уровня ($U = 872,5$, $p < 0,001$). Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что крысы групп «5 мМ R» и «1 мМ R» значительно отличались от крыс группы «0,1 мМ R» по динамике изменений уровня внеклеточного серотонина в мПК в ходе введения аргинина ($F_{(9,100)} = 5,1$, $p < 0,001$ — при сравнении групп «1 мМ R» и «0,1 мМ R»; $F_{(9,100)} = 4,3$, $p < 0,001$ — при сравнении групп «5 мМ R» и «0,1 мМ R») (рис. 2). Межгрупповое сравнение средних

(за весь период введения) значений уровня серотонина в ходе введения L-аргинина в концентрациях 0,1 мМ, 1 мМ и 5 мМ подтвердило влияние концентрации L-аргинина на этот показатель ($N = 41$, $p < 0,001$) (рис. 3). По данным апостериорного анализа, средние (за весь период введения) уровни серотонина в мПК при введениях 1 мМ и 5 мМ L-аргинина были выше, чем значение этого показателя при введении 0,1 мМ L-аргинина ($p < 0,05$ в обоих случаях). При этом не было выявлено значимых различий между животными групп «1 мМ R» и «5 мМ R» по изменениям уровня внеклеточного серотонина в мПК, вызываемых введениями аргинина ($F_{(9,90)} = 0,8$, $p = 0,7$) (рис. 2) и по среднему (за весь период введения) уровню внеклеточного серотонина ($p > 0,05$) (рис. 3).

Введение DEA (3 мМ) крысам группы «3 мМ DEA» (экзогенная нитрергическая стимуляция)

приводило к подъему уровня внеклеточного серотонина в мПК относительно собственного фонового уровня (Хи-квадрат = 63,5, $p < 0,001$) с максимумом $126 \pm 5\%$ в первые 15 минут введения, после чего наблюдалось падение уровня серотонина ниже фоновых значений (рис. 4).

Обсуждение результатов

NO модулирует серотониновую нейротрансмиссию в различных отделах головного мозга, в том числе за счет влияния на высвобождение серотонина (Ghasemi et al. 2019). Однако знак таких NO-серотониновых влияний варьирует от структуры к структуре и зависит от концентрации NO (Zhou et al. 2018), а также, как показали наши прежние результаты, упомянутые во введении (Saulskaya et al. 2021), определяется длительностью экзогенной нитрергической

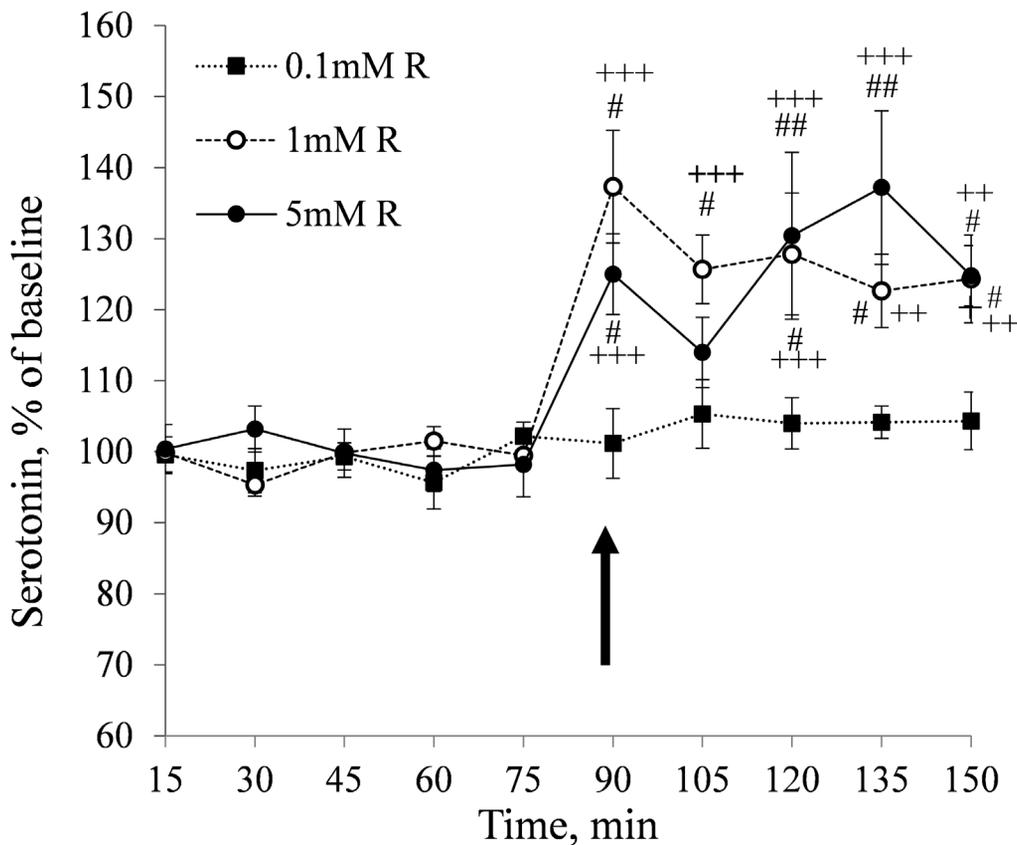


Рис. 2. Изменения уровня внеклеточного серотонина в мПК крыс с введениями в мПК L-аргинина в концентрациях 0,1 мМ, 1 мМ и 5 мМ (группы «0,1 мМ R», «1 мМ R» и «5 мМ R», соответственно). По оси X — время, мин; по оси Y — уровень серотонина, % к фону; черная стрелка — начало введения аргинина. Разброс на графиках — ошибка среднего. # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,001$ — при сравнении с фоном; + — $p < 0,05$; ++ — $p < 0,01$; +++ — $p < 0,001$ — при сравнении с введением 0,1 мМ L-аргинина

Fig. 2. Changes in mPFC extracellular serotonin levels of rats with intra-mPFC infusions of L-arginine at concentrations of 0.1 mM, 1 mM, and 5 mM (groups '0.1 m R', '1 mM R' и '5 mM R' respectively). X-axis — time, min; Y-axis — serotonin levels, % of the baseline; black arrow indicates the beginning of the L-arginine infusion; the deviation in the plot — errors of the mean. # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,001$ — compared with basal values; + — $p < 0,05$; ++ — $p < 0,01$; +++ — $p < 0,001$ — compared with 0.1 μ M L-arginine infusion

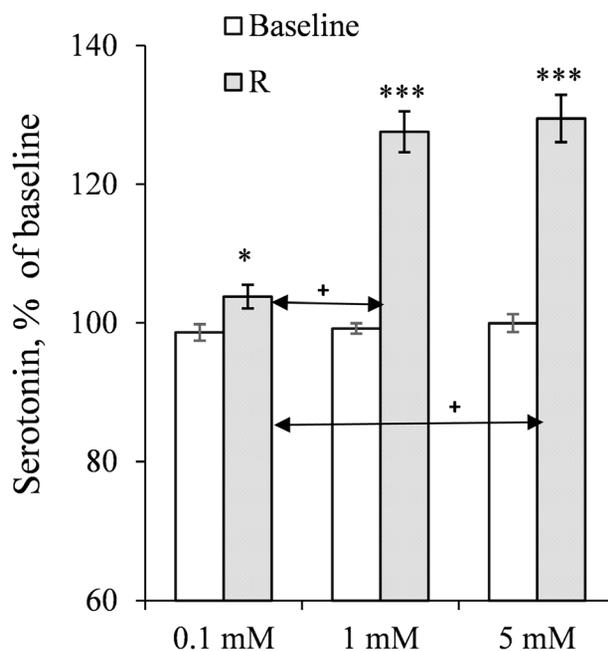


Рис. 3. Средние (за весь период введения) изменения уровня внеклеточного серотонина в мПК при введении L-аргинина (R) в концентрациях 0,1 мМ, 1 мМ и 5 мМ относительно собственного фонового уровня (Baseline). * — $p < 0,05$; *** — $p < 0,001$ — при сравнении с фоном; + — $p < 0,05$ — при межгрупповом сравнении. Остальные обозначения, как на рис. 2

Fig. 3. The average (for the entire period of infusion) changes of extracellular serotonin in the mPFC during the infusion of L-arginine (R) at concentrations of 0.1 mM, 1 mM, and 5 mM in comparison with the basal extracellular serotonin level (Baseline). * — $p < 0.05$; *** — $p < 0.001$ — compared with basal values; + — $p < 0.05$ — intergroup comparison. Other designations are as in Fig. 2

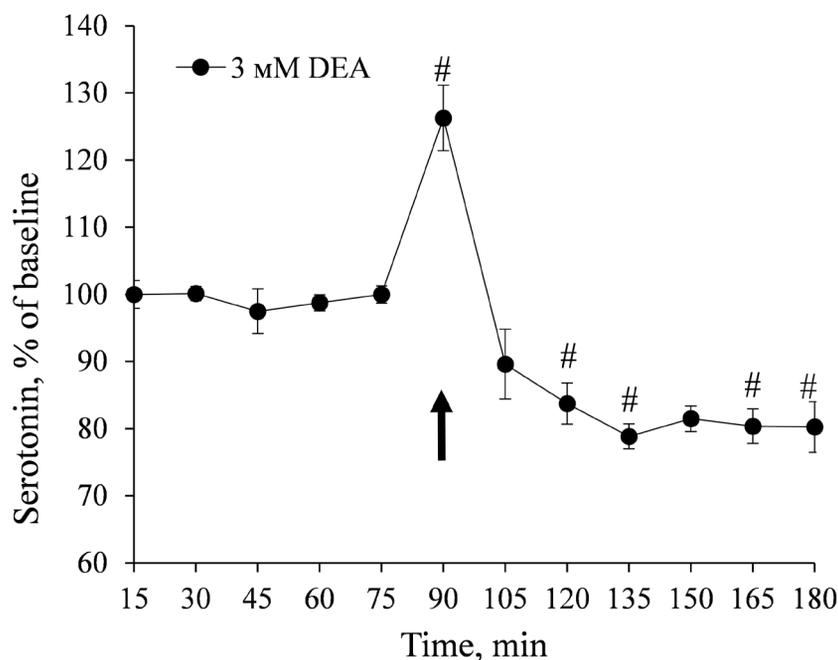


Рис. 4. Изменение уровня внеклеточного серотонина в мПК крыс при введении в мПК 3 мМ DEA (3 mM DEA). # — $p < 0,05$; — при сравнении с фоном. Остальные обозначения, как на рис. 2

Fig. 4. Changes in mPFC extracellular serotonin levels of rats with intra-mPFC infusions of 3 mM DEA. # — $p < 0.05$ — compared with basal values. Other designations are as in Fig. 2

стимуляции. В частности, ранее мы установили, что экзогенная нитрергическая стимуляция мПК введением 0,1 мМ DEA, донора NO, увеличивает уровень внеклеточного серотонина в этой области в течение всего периода введения (60 мин), а введение 1 мМ DEA — в течение первых 30 мин, после чего уровень серотонина возвращается к фоновым значениям (Saulskaya et al. 2022). Такие активационные эффекты NO (0,1 мМ, 0,5 мМ, 1 мМ) на высвобождение серотонина могут быть опосредованы торможением оксидом азота обратного захвата серотонина (Asano et al. 1997; Chanrion et al. 2007). Кроме того, NO может стимулировать процесс экзоцитоза, активируя рГЦ — одну из основных мишеней NO (Guevara-Guzman et al. 1994). Более того, продолжительная (180 мин) инфузия 1 мМ DEA в мПК приводила к падению этого показателя ниже фонового уровня в конце введения (Saulskaya et al. 2021), возможно, как отмечалось выше, вследствие десенситизации рГЦ (Sayed et al. 2007) в ходе длительного введения DEA (1 мМ).

Результаты настоящей работы подтверждают эту закономерность, демонстрируя, что введение в мПК 3 мМ DEA вызывает лишь кратковременный (15 мин) подъем уровня внеклеточного серотонина в мПК, за которым следует быстрое уменьшение этого показателя ниже фоновых значений, сохраняющееся в течение всего периода введения DEA (рис. 3). Сопоставление этих данных позволяет сделать вывод, что чем выше концентрация вводимого в мПК DEA, тем быстрее активационное влияние экзогенного NO на высвобождение серотонина в этой области переходит в тормозное. Таким образом, значительная и длительная нитрергическая стимуляция мПК может быть важной предпосылкой для появления тормозных эффектов NO на высвобождение серотонина в этой области.

Эти результаты переключаются с данными литературы о том, что сильный стресс при моделировании посттравматического стрессового расстройства провоцирует длительную активацию нитрергических процессов в ЦНС, что вызывает хроническое торможение активности серотониновых нейронов ядер шва и сопровождается усилением тревожности и проявлений страха (Sun et al. 2021).

Значимым результатом работы являются данные, свидетельствующие, что более мягкая (эндогенная) нитрергическая стимуляция мПК локальными введениями субстрата NO-синтазы L-аргинина в широком диапазоне концентраций (0,1 — 5 мМ) (в отличие от DEA) увеличивает уровень внеклеточного серотонина в мПК в течение всего времени введения. При этом,

по нашим прежним данным, блокада нитрергической системы мПК локальным введением N-нитро-L-аргинина (0,5 мМ), ингибитора NO-синтазы, снижает данный показатель (Saulskaya et al. 2022). Рассмотренные вместе, эти результаты позволяют сделать вывод о стимулирующем действии эндогенных нитрергических сигналов мПК на высвобождение серотонина в этой корковой области.

В целом, полученные в работе новые данные свидетельствуют, что эндогенная и экзогенная нитрергические стимуляции мПК по-разному регулируют высвобождение серотонина в мПК, что, возможно, отражает различие в механизмах, обслуживающих NO-серотониновое взаимодействие в этой области коры в норме и при психопатологии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Исследования с участием животных соответствуют принципам международной этики. Экспериментальный протокол утвержден Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ 04/19 от «19» апреля 2021 г.).

Ethics Approval

The authors state that all international ethical principles of research that includes animals have been followed. The experimental protocol was approved by the Commission on Humane Treatment of Animals of the Pavlov Institute of Physiology RAS (No. 04/19, 19 April 2021).

Вклад авторов

- а. Сусорова Мария Андреевна — проведение экспериментов, статистическая обработка и анализ полученных данных, подготовка рисунков, написание статьи;
- б. Саульская Наталья Борисовна — планирование экспериментов, статистическая обработка, анализ и обсуждение полученных данных, научное редактирование рукописи.

Author Contributions

- a. Mariya A. Susorova — conducted experiments, performed statistical data processing, analyzed the obtained data, prepared the drawings, wrote the article;
- b. Natalia B. Saulskaya — developed the design of research experiments, performed statistical data processing, analyzed and discussed the obtained data, performed academic editing of the manuscript.

Благодарности

Авторы благодарят младшего научного сотрудника Н. А. Трофимову за помощь в работе с животными при проведении экспериментов.

Acknowledgements

The authors thank N. A. Trofimova, Junior Researcher, for her help with animals during the experiments.

References

- Asano, S., Matsuda, T., Nakasu, Y. (1997) Inhibition by nitric oxide of the uptake of [³H]serotonin into rat brain synaptosomes. *Japanese Journal of Pharmacology*, vol. 75, no. 2, pp. 123–128. [https://doi.org/10.1016/S0021-5198\(19\)31323-X](https://doi.org/10.1016/S0021-5198(19)31323-X) (In English)
- Asok, A., Kandel, E. R., Rayman, J. B. (2019) The neurobiology of fear generalization. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, vol. 12, article 329. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00329> (In English)
- Chachlaki, K., Prevot, V. (2020) Nitric oxide signalling in the brain and its control of bodily functions. *British Journal of Pharmacology*, vol. 177, no. 24, pp. 5437–5458. <https://doi.org/10.1111/bph.14800> (In English)
- Chanrion, B., Mannoury la Cour, C., Bertaso, F. et al. (2007) Physical interaction between the serotonin transporter and neuronal nitric oxide synthase underlies reciprocal modulation of their activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 19, pp. 8119–8124. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610964104> (In English)
- Gabbott, P. L. A., Bacon, S. J. (1995) Co-localisation of NADPH diaphorase activity and GABA immunoreactivity in local circuit neurones in the medial prefrontal cortex (mPFC) of the rat. *Brain Research*, vol. 699, no. 2, pp. 321–328. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01084-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01084-9) (In English)
- Garthwaite, J. (2018) Nitric oxide as a multimodal brain transmitter. *Brain and Neuroscience Advances*, vol. 2, article 2398212818810683. <https://doi.org/10.1177/2398212818810683> (In English)
- Ghasemi, M., Claunch, J., Niu, K. (2019) Pathologic role of nitrenergic neurotransmission in mood disorders. *Progress in Neurobiology*, vol. 173, pp. 54–87. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.06.002> (In English)
- Guevara-Guzman, R., Emson, P. C., Kendrick, K. M. (1994) Modulation of *in vivo* striatal transmitter release by nitric oxide and cyclic GMP. *Journal of Neurochemistry*, vol. 62, no. 2, pp. 807–810. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.62020807.x> (In English)
- Lorrain, D. S., Hull, E. M. (1993) Nitric oxide increases dopamine and serotonin release in the medial preoptic area. *NeuroReport*, vol. 5, no. 1, pp. 87–89. <https://doi.org/10.1097/00001756-199310000-00024> (In English)
- Robinson, S. W., Bourgognon, J.-M., Spiers, J. G. et al. (2018) Nitric oxide-mediated posttranslational modifications control neurotransmitter release by modulating complexin farnesylation and enhancing its clamping ability. *PLoS Biology*, vol. 16, no. 4, article e2003611. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003611> (In English)
- Saulskaya, N. B., Burmakina, M. A., Trofimova, N. A. (2021) Nitric oxide inhibits the functional activation of the medial prefrontal cortex serotonin system during fear formation and decreases fear generalization. *Neurochemical Journal*, vol. 15, no. 3, pp. 266–272. <https://doi.org/10.1134/S1819712421030107> (In English)
- Saulskaya, N. B., Burmakina, M. A., Trofimova, N. A. (2022) Effect of activation and blockade of nitrenergic neurotransmission on serotonin system activity of the rat medial prefrontal cortex. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 58, no. 2, pp. 500–507. <https://doi.org/10.1134/S0022093022020181> (In English)
- Saulskaya, N. B., Marchuk, O. E., Puzanova, M. A., Trofimova, N. A. (2020) Activation of serotonin system in the medial prefrontal cortex by sound signals of danger. *Neurochemical Journal*, vol. 14, no. 4, pp. 408–414. <https://doi.org/10.1134/S181971242004008X> (In English)
- Saulskaya, N. B., Sudorghina, P. V. (2016) Activity of the nitrenergic system of the medial prefrontal cortex in rats with high and low levels of generalization of a conditioned reflex fear reaction. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 46, no. 8, pp. 964–970. <https://doi.org/10.1007/S11055-016-0338-2> (In English)
- Sayed, N., Baskaran, P., Ma, X. et al. (2007) Desensitization of soluble guanylyl cyclase, the NO receptor, by S-nitrosylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 30, pp. 12312–12317. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703944104> (In English)
- Simpson, K. L., Waterhouse, B. D., Lin, R. C. S. (2003) Differential expression of nitric oxide in serotonergic projection neurons: Neurochemical identification of dorsal raphe inputs to rodent trigeminal somatosensory targets. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 466, no. 4, pp. 495–512. <https://doi.org/10.1002/cne.10912> (In English)

- Sinner, C., Kaehler, S. T., Philippu, A., Singewald, N. (2001) Role of nitric oxide in the stress-induced release of serotonin in the locus coeruleus. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, vol. 364, no. 2, pp. 105–109. <https://doi.org/10.1007/s002100100428> (In English)
- Sun, N., You, Y., Yang, D. et al. (2021) Neuronal nitric oxide synthase in dorsal raphe nucleus mediates PTSD-like behaviors induced by single-prolonged stress through inhibiting serotonergic neurons activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 585, pp. 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.11.048> (In English)
- Sun, N., Qin, Y.-J., Chu, X. et al. (2022) Design of fast-onset antidepressant by dissociating SERT from nNOS in the DRN. *Science*, vol. 378, no. 6618, pp. 390–398. <https://doi.org/10.1126/science.abo3566> (In English)
- Wegener, G., Volke, V., Rosenberg, R. (2000) Endogenous nitric oxide decreases hippocampal levels of serotonin and dopamine *in vivo*. *British Journal of Pharmacology*, vol. 130, no. 3, pp. 575–580. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703349> (In English)
- Zhou, Q.-G., Zhu, X.-H., Nemes, A. D., Zhu, D.-Y. (2018) Neuronal nitric oxide synthase and affective disorders. *IBRO Reports*, vol. 5, pp. 116–132. <https://doi.org/10.1016/j.ibror.2018.11.004> (In English)