

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

## Профиль экспрессии генов, связанных с регуляцией стресса, поведения и нейрогенеза, вдоль дорзовентральной оси в гиппокампе у взрослых ручных и агрессивных лисиц

Ю.В. Александрович<sup>1</sup>, Е.В. Антонов<sup>1,2</sup>, С.Г. Шихевич<sup>1</sup>, А.В. Харламова<sup>1</sup>, Л.В. Мейстер<sup>1</sup>, Ю.В. Маковка<sup>1</sup>, Д.В. Шепелева<sup>1</sup>, Р.Г. Гулевич<sup>1</sup>✉, Ю.Э. Гербек<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр трансляционной медицины, Сочи, Россия

<sup>3</sup> Школа ветеринарной медицины им. И. Корета, Факультет сельского хозяйства, продовольственных ресурсов и окружающей среды им. Р.Г. Смита, Еврейский университет в Иерусалиме, Реховот, Израиль

✉ gulevich@bionet.nsc.ru

**Аннотация.** Гиппокамп является ключевой структурой в регуляции стресс-ответа, который, по-видимому, снижен у домашних животных по сравнению с их дикими сородичами. Известно, что гиппокамп функционально неоднороден вдоль дорзовентральной оси, и в регуляции стресса в большей мере участвует вентральная часть. В серии экспериментов на уникальной селекционной модели одомашнивания животных – серебристо-черной лисице (*Vulpes vulpes*), включающей ручных, агрессивных и неселекционированных животных, ранее было показано снижение активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы во многих звеньях. Кроме того, что уровень нейрогенеза в гиппокампе повышен у взрослых ручных лисиц, что может быть взаимосвязано со снижением уровня стресса. Тем не менее молекулярно-генетические механизмы снижения стресс-ответа у domesticiрованных животных по-прежнему не ясны. В настоящей работе выполнено сравнение мРНК 13 генов в дорзальном и вентральном гиппокампе и проведен анализ кортизола в крови у ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц. Установлено, что на данном этапе domesticiкации стресс-индуцированный уровень кортизола у ручных, агрессивных и неселекционированных животных достоверно отличается друг от друга, причем у ручных животных он самый низкий, а у агрессивных – самый высокий. Выявлены достоверные различия в экспрессии 12 генов между дорзальной и вентральной частями гиппокампа, что в большинстве случаев соответствует аналогичным различиям, найденным у грызунов и человека. У ручных лисиц обнаружен достоверно повышенный уровень в дорзальном гиппокампе мРНК генов цитохрома P450 26B1 (*CYP26B1*) и адренергического рецептора  $\alpha_{1A}$  (*ADRA1A*), а в вентральном гиппокампе – мРНК гена минералокортикоидного рецептора (*NR3C2*). Эти гены могут быть важной частью механизма снижения стресса по отношению к человеку и взаимосвязи регуляции стресса и нейрогенеза у взрослых ручных лисиц в частности и domesticiрованных животных вообще.

Ключевые слова: ручное поведение; агрессия; domesticiкация; серебристо-черные лисицы; кортизол.

**Для цитирования:** Александрович Ю.В., Антонов Е.В., Шихевич С.Г., Харламова А.В., Мейстер Л.В., Маковка Ю.В., Шепелева Д.В., Гулевич Р.Г., Гербек Ю.Э. Профиль экспрессии генов, связанных с регуляцией стресса, поведения и нейрогенеза, вдоль дорзовентральной оси в гиппокампе у взрослых ручных и агрессивных лисиц. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(6):651-661. DOI 10.18699/VJGB-23-76

## The expression profile of genes associated with behavior, stress, and adult neurogenesis along the hippocampal dorsoventral axis in tame and aggressive foxes

Yu.V. Alexandrovich<sup>1</sup>, E.V. Antonov<sup>1,2</sup>, S.G. Shikhevich<sup>1</sup>, A.V. Kharlamova<sup>1</sup>, L.V. Meister<sup>1</sup>, Y.V. Makovka<sup>1</sup>, D.V. Shepeleva<sup>1</sup>, R.G. Gulevich<sup>1</sup>✉, Yu.E. Herbeck<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Sirius University of Science and Technology, Scientific Center for Translational Medicine, Sochi, Russia

<sup>3</sup> Koret School of Veterinary Medicine, The Robert H. Smith Faculty of Agriculture, Food and Environment, The Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel

✉ gulevich@bionet.nsc.ru

**Abstract.** The hippocampus plays the key role in stress response regulation, and stress response appears to be weakened in domesticated animals compared to their wild relatives. The hippocampus is functionally heterogeneous along its dorsoventral axis, with its ventral compartment being more closely involved in stress regulation. An earlier series of experiments was conducted with a unique breeding model of animal domestication, the farm silver fox (*Vulpes vulpes*), which included tame, aggressive, and unselected animals. A decrease in many indices of the hypothalamic–pituitary–adrenal activity was observed in tame animals. Also, adult hippocampal neurogenesis was more intense in tame foxes, and this fact may relate

to reduced stress levels in this experimental population of foxes. Nevertheless, the molecular mechanisms responsible for the reduced stress response in tame animals remain obscure. In this study, serum cortisol levels and the mRNA levels of 13 genes in the dorsal and ventral hippocampus have been measured and compared in tame, aggressive, and unselected foxes. At the current stage of domestication, stress-induced cortisol levels in tame, aggressive, and unselected animals differ significantly from each other: tame foxes show the lowest levels, and aggressive ones, the highest. Twelve genes tested demonstrate significant gene expression differences between the dorsal and ventral hippocampi. These differences are mainly consistent with those found in rodents and humans. In tame foxes, significantly elevated mRNA levels were recorded for several genes: *CYP26B1* for cytochrome P450 26B1 and *ADRA1A* for  $\alpha_{1A}$  adrenergic receptor in the dorsal hippocampus, whereas the level of *NR3C2* mRNA for mineralocorticoid receptor was higher in the ventral. It is presumed that these genes constitute an important part of the mechanism reducing stress induced by contacts with humans and contribute to linking stress regulation with adult neurogenesis in tame foxes and domesticated animals in general.

Key words: tame behavior; aggression; domestication; silver fox; cortisol.

**For citation:** Alexandrovich Yu.V., Antonov E.V., Shikhevich S.G., Kharlamova A.V., Meister L.V., Makovka Y.V., Shepeleva D.V., Gulevich R.G., Herbeck Yu.E. The expression profile of genes associated with behavior, stress, and adult neurogenesis along the hippocampal dorsoventral axis in tame and aggressive foxes. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(6):651-661. DOI 10.18699/VJGB-23-76

## Введение

Гиппокамп – важная структура мозга, которая участвует в регуляции таких процессов, как стресс-ответ, обучение, пространственная и память социального распознавания и консолидация памяти. Объем гиппокампа у млекопитающих и птиц и уровень нейрогенеза у взрослых млекопитающих, вероятно, связан со способностью к пространственной ориентации и памяти, и, возможно, изменение морфологии гиппокампа вызвано адаптивной эволюцией (Jacobs et al., 1990; Jacobs, Spencer, 1994; Rehkämper et al., 2008; Croston et al., 2015; Sonnenberg et al., 2019). Однако некоторые исследователи считают, что хотя уровень нейрогенеза и объем гиппокампа адаптивны, они не связаны с памятью или пространственной ориентацией (Lipp, 2017). Так, 15-кратный уровень нейрогенеза в гиппокампе у взрослых рыжих лисиц по сравнению с собакой (Amrein, Slomianka, 2010) может быть связан с пространственным запоминанием, характерным для лисиц при запасании пищи (Sklepkovych, Montecchi, 1996). Кроме того, известно, что поле CA2 участвует в формировании социальной памяти и в процессах распознавания (Tzakis, Holahan, 2019). Объем же CA1 и CA3 у приматов, по-видимому, ассоциирован с социальными и экологическими сигналами, такими как размер группы и домашнего ареала (Todorov et al., 2019).

Гиппокамп является одним из ключевых звеньев центральной регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС). Известно, что он функционально и структурно неоднороден вдоль дорзовентральной оси. Считается, что с регуляцией активности ГГНС, стрессорным и эмоциональным ответом связана преимущественно вентральная часть гиппокампа, а с когнитивными функциями – дорзальная (O’Leary, Cryan, 2014; Gulyaeva, 2019), что, вероятно, обусловлено расположением этих частей гиппокампа и, соответственно, большим количеством проекций у дорзального гиппокампа в кору, а у вентрального – в структуры, относящиеся к лимбической системе (O’Leary, Cryan, 2014).

В гиппокампе, наряду с субэпендимальной зоной боковых желудочков, постоянно происходит нейрогенез – даже во взрослом возрасте (Ming, Song, 2011). При этом уровень нейрогенеза в большинстве случаев снижается при воздействии стресса, и наоборот, высокий уровень

нейрогенеза уменьшает эффект стресса на гиппокамп (Levone et al., 2015). Таким образом, существуют взаимные влияния стресса на функциональный ответ гиппокампа, и наоборот. По-видимому, эффект стресса в разной степени действует на нейрогенез вдоль дорзовентральной оси (O’Leary, Cryan, 2014). Возможно, поэтому у ручных лисиц, стресс-реактивность которых существенно ниже, уровень нейрогенеза в гиппокампе выше, чем у неселекционированных, причем самые заметные различия обнаружены в вентральной и средней частях (Huang et al., 2015). В то же время важно отметить, что в исследованиях, проведенных на собаках, различия между дорзальным и вентральным гиппокампом сохранялись на одном уровне, несмотря на существенные различия в общем уровне нейрогенеза между особями (Lowe et al., 2015).

В экспериментах с образцами гиппокампа крыс, мышей и человека обнаружены различия между дорзальным и вентральным гиппокампом также на уровне экспрессии генов, что, вероятно, отражает как функциональные, так и структурные различия вдоль его оси (Cembrowski et al., 2016; Lee et al., 2017; Floriou-Servou et al., 2018; Vogel et al., 2020). Однако у других таксонов, несмотря на функциональные и структурные особенности, паттерн экспрессии этих генов в гиппокампе вдоль дорзовентральной оси не изучался.

Поэтому в данной работе для исследования изменений экспрессии генов вдоль дорзовентральной оси и поиска молекулярно-генетических механизмов взаимодействия нейрогенеза и стресса было оценено количество мРНК 13 генов в дорзальном и вентральном отделах гиппокампа у серебристо-черных лисиц – модели доместикации животных, созданной многолетним отбором на эмоционально-положительное («ручные») или на агрессивное поведение по отношению к человеку, контролем к которым служили лисицы, не подвергнутые сознательному отбору по поведению.

Известно, что они существенно различаются по глюкокортикоидному стресс-ответу и активности ГГНС во многих звеньях, что, по-видимому, является общей особенностью домашних животных (Belyaev, 1979; Price, 2000; Трут и др., 2004; Trut et al., 2009), и уровню нейрогенеза в гиппокампе во взрослом состоянии (Huang et al., 2015). Полногеномный анализ доместизируемых лисиц выявил

гены из системы ретиноевой кислоты, связанной с активацией нейрогенеза, которые локализованы в регионах, предположительно подвергнутых отбору (Kukekova et al., 2018; Трут и др., 2021). Кроме того, обнаружено, что количество мРНК одного из этих генов, *CYP26B1*, в дорзальном гиппокампе ручных лисиц отличается от такового у агрессивных (неопубликованные данные). Вероятно, это один из механизмов изменения взрослого нейрогенеза у лисиц, что может тоже влиять на уровень стресса, обучение и память, а также социальное поведение. Однако ничего не известно об изменении этого гена в вентральной части гиппокампа лисиц различного поведения, хотя у мыши, крысы и человека его повышенная экспрессия считается маркером дорзального гиппокампа.

Помимо гена *CYP26B1*, в данной работе было исследовано количество мРНК в дорзальном и вентральном гиппокампе других генов, экспрессия которых у мыши, крысы или человека существенно изменялась вдоль дорзовентральной оси (Vogel et al., 2020) (см. табл. 1), с одной стороны, и которые были связаны с нейрогенезом, стрессом или поведением, с другой. Гены *NR3C1*, *NR3C2* и *HSD11B1* участвуют в регуляции ГГНС – глюкокортикоидных рецепторов первого и второго типа, и 11 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы первого типа (de Kloet et al., 2016). *NR2F2* является одним из наиболее четких маркеров положения вдоль дорзовентральной оси гиппокампа и в то же время, по-видимому, играет роль медиатора в транскрипционной активности, индуцированной рецепторами глюкокортикоидов и ретиноевой кислоты, что, вероятно, связано со взаимодействием стресса и нейрогенеза (de Martino et al., 2004; Vogel et al., 2020). Ген *ADRA1A* адренергического рецептора  $\alpha_{1A}$  известен возможной ролью в регуляции поведения и нейрогенеза (Doze et al., 2011; Vogel et al., 2020). *KCND2*, *KCND3*, *CADM2*, *CPNE2* – гены, связанные с  $K^{+}$ - и  $Ca^{2+}$ -зависимой синаптической передачей и глутаматной трансмиссией (Corradini et al., 2014; Truvé et al., 2020; Haddjeri-Hopkins et al., 2021; Xiao et al., 2021), которая, по-видимому, является важнейшей в доместикационных изменениях поведения (O'Rourke, Voescx, 2020; Трут и др., 2021). Экспрессия же генов *TRHR*, *LCT* и *NTS* использовалась в предыдущих работах в качестве маркеров вентрального и дорзального гиппокампов соответственно (Cembrowski et al., 2016; Lee et al., 2017).

Полученные ранее данные о глюкокортикоидном стресс-ответе у лисиц требуют дополнительных исследований на современном этапе отбора по следующим причинам. Параллельная экспериментальная модель доместикации на серых крысах, селекционированная по критериям, близким к лисицам, после более чем 60 поколений отбора дикой родительской популяции потеряла различия в глюкокортикоидном стресс-ответе между ручными и агрессивными животными. Скорее всего, это произошло вследствие адаптации агрессивных крыс к человеку и условиям неволи (Прасолова и др., 2014). В предыдущих исследованиях использовали несоциальный рестрикционный стресс (Трут и др., 2004; Трут et al., 2009). Эта методика менее корректная, чем использование социального стресса при изучении контактов животных между собой и с человеком. Так, показано, что у крыс,

селекционированных на высокий уровень тревожно-подобного поведения, рестрикционный стресс вызывает больший кортикостероновый стресс-ответ, чем у крыс, селекционированных на низкий уровень, а при социальном стрессе в тесте резидент-интродер – наоборот (Veemeta, Neumann, 2007). Поэтому в нашей работе исследован стресс-ответ на комбинированное воздействие – удержание лисицы социальным объектом (человеком). Удержание на руках в течение 15 мин является стрессором для всех трех популяций лисиц, так как при отборе лисиц никогда не брали на руки и они имели возможность избежать контакта с человеком.

## Материалы и методы

**Экспериментальные животные.** Исследование проводили на трех группах серебристо-черных лисиц (*Vulpes vulpes*): доместизируемые, агрессивные и неселекционированные животные. Селекция ведется более 60 лет на эмоционально-положительную (у доместизируемых) или на агрессивно-оборонительную (у агрессивных) реакции по отношению к человеку (Belyaev, 1979; Трут и др., 2004; Трут et al., 2009) в ЦКП «Генофонды пушных и сельскохозяйственных животных» ИЦиГ СО РАН, Новосибирск.

Образцы крови взяты из *v. safena* у 6–7-месячных самцов перед стрессом (удержанием на руках человека в течение 15 мин) и сразу после этого воздействия. Интактных, без предварительного воздействия стресса, 7–8-месячных самцов умерщвляли путем введения 5 % раствора тиопентала натрия. Были взяты фрагменты дорзальной и вентральной частей гиппокампа. Все образцы хранились при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$ . Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами работы с лабораторными хищными млекопитающими» (ГОСТ 33217-2014) и международными европейскими биоэтическими стандартами (директива 2010/63/EU).

**Хроматографический анализ.** Содержание кортизола в сыворотке крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматограф Agilent 1200 Series LC) с использованием диоднолучного детектора, как в предыдущих исследованиях (Овчинников и др., 2018). Для концентрирования образцов применяли жидкостную экстракцию дихлорэтаном. Элюирование проводили в изократическом режиме: 30 % ацетонитрила в воде со скоростью подачи элюента 1 мл/мин. Для количественного анализа была выбрана длина волны 246 нм. Хроматографическое разделение осуществляли на колонке ZORBAX C18 2 $\times$ 150 мм, 5 мкм. Концентрации вычисляли по внутреннему стандарту (дексаметазон).

**Выделение суммарной РНК и ОТ-ПЦР в реальном времени.** РНК выделяли с помощью TRI Reagent (Molecular Research Center, Inc.) согласно инструкциям производителя, как описано в (Овчинников и др., 2018). Концентрацию РНК, а также отношение поглощения на длинах волн (нм) A260/A280 и A260/A230 для определения чистоты выделения РНК измеряли на приборе NanoPhotometer N50 (Implen, Германия). Далее удаляли геномную ДНК из препаратов РНК, используя набор DNase I, RNase-free (Thermo Fisher Scientific, Литва). кДНК синтезировали в объеме 20 мкл с использованием 0.2 мкг РНК, свободной

от ДНК, с помощью набора Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR (Thermo Fisher Scientific, Литва).

Последовательности праймеров к исследуемым генам были подобраны в интернет-ресурсе Primer-BLAST (Ye et al., 2012). Последовательности для каждого праймера приведены в табл. 1.

ПЦР в реальном времени проводили на приборе Roche LightCycler 96 Real-Time PCR System (Roche Diagnostics, Швейцария). Реакционная смесь в объеме 20 мкл содержала 4 мкл кДНК (разведенных в 20 раз), 0.3 мкл праймеров (10 пкмоль/мкл), 7.4 мкл воды MQ и 8 мкл концентрата «2.5× реакционная смесь для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя SYBR Green I», кат. № M-427 («Синтол», Россия). Каждую реакцию выполняли в двух технических повторах.

Результаты обрабатывали модифицированным методом  $\Delta\Delta C_t$  (Livak, Schmittgen, 2001), позволяющим учитывать эффективность реакции, в программе GenEx ver.6 (Multi-D, Швеция). В качестве референсного гена использовали *CANX* (Calnexin) ввиду высокого уровня и стабильности экспрессии как между отдельными лисицами, так и между дорзальным и вентральным гиппокампом, подтвержденной с помощью программы NormFinder (Andersen et al., 2004). За единицу относительной экспрессии (калибратор) принимали среднюю экспрессию каждого гена. Кроме того, для корректного сравнения результатов нескольких планшетов использовали дополнительный внешний образец, который присутствовал на всех планшетах.

**Статистическая обработка.** Статистическую значимость результатов концентрации гормонов в экспериментальных группах оценивали с помощью факторного дисперсионного анализа с повторяющимися измерениями, с последующим *post-hoc* анализом Фишера (Fisher LSD), прирост уровня кортизола оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

Для сравнения результатов ОТ-ПЦР применяли тест Краскела–Уоллеса. Парные сравнения проводили, используя тест Манна–Уитни. Непараметрические критерии были применены, так как выборки не соответствовали нормальному распределению согласно критерию Колмогорова–Смирнова.

Для анализа использовали программные пакеты Statistics ver.10, StatSoft (США) и GenEx ver.6 (Multi-D, Швеция). Во всех случаях величина  $p < 0.05$  считалась статистически значимой. Результаты на графиках представлены в виде значений среднего  $\pm$  ошибка среднего.

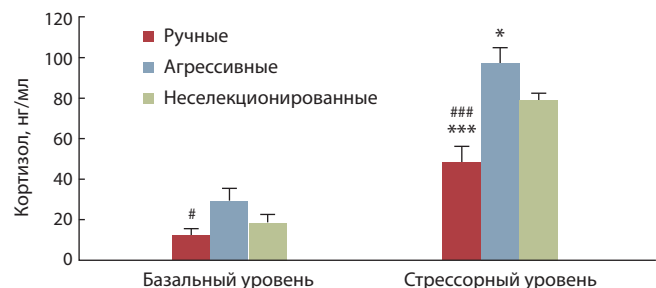
## Результаты

### Анализ количества кортизола в сыворотке крови в ответ на стресс

Факторный дисперсионный анализ с повторяющимися измерениями выявил эффект генотипа ( $F_{2,28} = 9.62, p < 0.001$ ) и эффект стресса на уровень кортизола ( $F_{2,28} = 179.72, p < 0.001$ ). Взаимодействие фактора генотипа и фактора стресса также достоверно ( $F_{2,28} = 9.36, p < 0.01$ ). Базальный уровень кортизола в сыворотке крови у одомашниваемых лисиц был ниже, чем у агрессивных (рис. 1,  $p < 0.05$ ), и не отличался статистически от неселекционированных.

**Таблица 1.** Праймеры, использованные в ПЦР в реальном времени

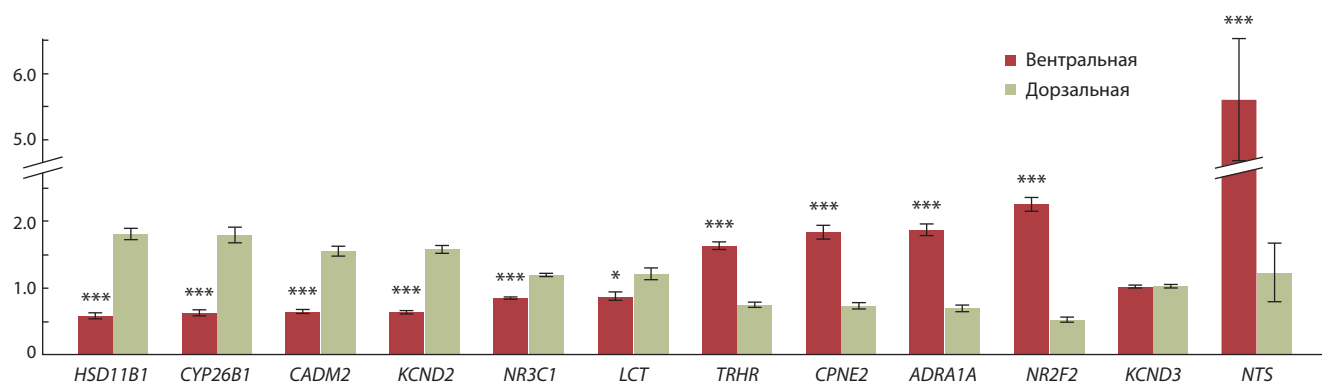
| Ген            | Последовательности праймеров   |
|----------------|--|
| <i>NTS</i>     | fNTS-F1: 5'-TGGTGTGCATGATACTTCTGG-3'<br>fNTS-R1: 5'-ACACTTGCTTTGCTGATCTTTG-3'      |
| <i>NR2F2</i>   | fNR2F2-F3: 5'-AGCCAAGGAATGTGTCCAAG-3'<br>fNR2F2-R3: 5'-CAATTCAGGAACCTAAGCGGGA-3'   |
| <i>ADRA1A</i>  | fADRA1A-F: 5'-CGTGCTCCAGTCAAGAGTTT-3'<br>fADRA1A-R: 5'-AAGGTATAGCCCAGGGTGTG-3'     |
| <i>CPNE2</i>   | fCPNE2-F6: 5'-CCAGGTCATGTGTACGACT-3'<br>fCPNE2-R6: 5'-CCTTTGCTTCTTGGGGTTGA-3'      |
| <i>CYP26B1</i> | fCYP26B1-F1: 5'-TTCTTTGGCCTGGACTCGAA-3'<br>fCYP26B1-R1: 5'-GGCTAGGCGCAGTTAGAC-3'   |
| <i>CADM2</i>   | fCADM2-F3: 5'-GTAGCCATAACAACCCAGCCC-3'<br>fCADM2-R3: 5'-AGAACACAGCGTGACAAATACA-3'  |
| <i>KCND2</i>   | fKCND2-F1: 5'-GAAAACCTTCCGCATCCAAA-3'<br>fKCND2-R1: 5'-ACATTCTTCCATCTTGGCGTT-3'    |
| <i>KCND3</i>   | fKCND3-F6: 5'-CAGAGACCGATAAACGCAG-3'<br>fKCND3-R6: 5'-GTGCAGATAGGCATTGGAGC-3'      |
| <i>TRHR</i>    | fTRHR-F1: 5'-GACTCAACCCATCAGAACAAGA-3'<br>fTRHR-R1: 5'-GGGCATCCATAAAAGGGCAA-3      |
| <i>LCT</i>     | fLCT-F1: 5'-AAGAACGGCGATTACAACGA-3'<br>fLCT-R1: 5'-TGCCATTGATCCTCTCTTCT-3'         |
| <i>HSD11B1</i> | fHSD11B1-F2: 5'-GCAAGGGGATTGGAGAACAG-3'<br>fHSD11B1-R2: 5'-GGTGCCAGGAATGTAGTGTG-3' |
| <i>NR3C1</i>   | fNR3C1-F6: 5'-CAAGCTGGGATGAACCTTGA-3'<br>fNR3C1-R6: 5'-AGTTTCTTGTGACGCTCTCG-3'     |
| <i>NR3C2</i>   | fNR3C2-F7: 5'-AAAGGCTACCACAGTCTCCC-3'<br>fNR3C2-R7: 5'-TCATCGGTCCTCTCTGTAGG-3'     |
| <i>CANX</i>    | CANX-F1: 5'-GATGCCCTTGCTAAGATTCC-3'<br>CANX-R1: 5'-CTTCATCCCAATCCTCTGGC-3'         |



**Рис. 1.** Базальный и индуцированный стрессом уровень кортизола в сыворотке крови ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц ( $n = 11$  в каждой группе).

\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$  по сравнению с неселекционированными лисицами. #  $p < 0.05$ , ###  $p < 0.001$  по сравнению с агрессивными лисицами.

Прирост уровня кортизола в крови был статистически значимым независимо от генотипа. Однако у одомашниваемых лисиц он менее выражен, чем у агрессивных и неселекционированных. Поэтому стрессорный уровень кортизола у агрессивных и неселекционированных превы-



**Рис. 2.** Различия в относительном количестве мРНК генов между дорзальной и вентральной частями гиппокампа ( $n = 18$  в каждой группе).

\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$  по сравнению с дорзальной частью гиппокампа.

**Таблица 2.** Различия в экспрессии генов между дорзальным и вентральным гиппокампом у разных видов животных

| Животное | HSD11B1           | CYP26B1 | CADM2                  | KCND2                  | NR3C1          | LCT            | NR3C2          | TRHR   | CPNE2           | ADRA1A  | NR2F2           | KCND3           | NTS    | Литературный источник       |
|----------|-------------------|---------|------------------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|--------|-----------------|---------|-----------------|-----------------|--------|-----------------------------|
| Мышь     | в (DG)<br>д (CA1) | д (CA3) | д (DG,<br>CA3,<br>CA1) | д (DG,<br>CA3,<br>CA1) | –              | д (DG,<br>CA3) | д (DG,<br>CA1) | –      | в (CA3,<br>CA1) | в (CA1) | в (CA3,<br>CA1) | в (CA3,<br>CA1) | –      | Cembrowski et al., 2016     |
|          | д                 | д       | д                      | д                      | –              | д              | д              | в      | в               | в       | в               | в               | в      | Floriou-Servou et al., 2018 |
| Крыса    | –                 | д       | д                      | д <sup>а</sup>         | д <sup>с</sup> | –              | д <sup>б</sup> | в      | в               | –       | в               | –               | д      | Lee et al., 2017            |
| Человек  | в                 | д       | д                      | –                      | –              | в              | –              | в      | в               | в       | в               | –               | д      | Vogel et al., 2020          |
| Лисица   | д                 | д       | д                      | д                      | д              | д              | д              | в      | в               | в       | в               | –               | в      | Наши данные                 |
| $p$      | <0.001            | <0.001  | <0.001                 | <0.001                 | <0.001         | 0.018          | 0.001          | <0.001 | <0.001          | <0.001  | <0.001          | >0.05           | <0.001 |                             |

Примечание. CA1, CA3, DG (зубчатая извилина) – поля гиппокампа. «д» – для генов с большим количеством мРНК в дорзальной области, «в» – для генов с большим количеством мРНК в вентральной области; «–» – не установлено;  $p$  в соответствии с критерием Манна–Уитни.

<sup>а</sup> 28 и 45 дней (развивающиеся животные); <sup>б</sup> 28 дней; <sup>с</sup> мРНК *Nr3c1* крыс из (Квичанский и др., 2017).

пает его значение у ручных лисиц ( $p < 0.001$ , см. рис. 1), в то же время у агрессивных этот показатель выше, чем у неселекционированных ( $p < 0.05$ , см. рис. 1).

#### Анализ количества мРНК генов

##### в дорзальном и вентральном гиппокампе лисиц

С помощью количественной ОТ-ПЦР в реальном времени обнаружено достоверно большее количество мРНК в дорзальном гиппокампе генов *HSD11B1*, *CYP26B1*, *CADM2*, *KCND2*, *NR3C1*, *LCT*, *NR3C2* и в вентральном у *TRHR*, *CPNE2*, *ADRA1A*, *NR2F2*, и не обнаружено в случае *KCND3* (рис. 2, табл. 2). У *NTS* имеет место большой разброс в количестве мРНК в гиппокампе разных лисиц, но экспрессия во всех случаях выше в вентральной части (см. рис. 2, табл. 2), точно так же, как уровень нейрогенеза в исследованиях на собаках (Lowe et al., 2015).

##### Анализ количества мРНК генов в гиппокампе

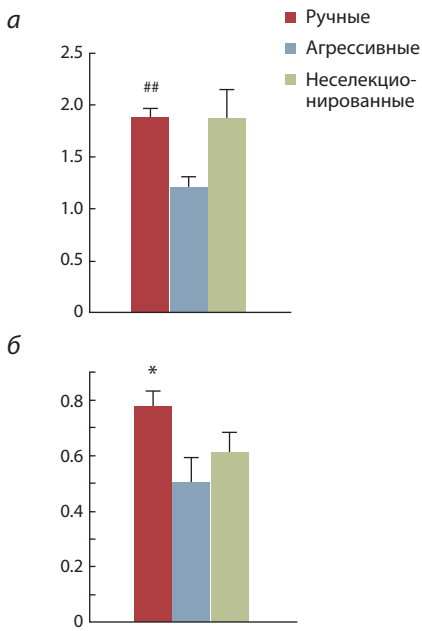
##### ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц

Сравнение мРНК генов, указанных в табл. 2, у различных групп лисиц (ручных, агрессивных и неселекционированных) критерием Краскела–Уоллеса выявило влияние гено-

типа на количество мРНК генов *CYP26B1* ( $H(2, n = 19) = 8.89$ ;  $p = 0.02$ ) и *ADRA1A* ( $H(2, n = 19) = 7.81$ ;  $p = 0.02$ ) в дорзальном гиппокампе, а также гена минералокортикоидного рецептора *NR3C2* ( $H(2, n = 19) = 7.07$ ;  $p = 0.03$ ) в вентральном гиппокампе. Достоверное превышение мРНК у ручных лисиц показано: для гена *CYP26B1* – по сравнению с агрессивными ( $p = 0.003$ ) (рис. 3, а), а для гена *ADRA1A* – по сравнению как с агрессивными ( $p = 0.027$ ), так и с неселекционированными ( $p = 0.038$ ) (см. рис. 3, б). В вентральном гиппокампе обнаружено достоверное превышение количества мРНК гена минералокортикоидного рецептора *NR3C2* у ручных лисиц по сравнению с неселекционированными ( $p = 0.011$ ) (рис. 4).

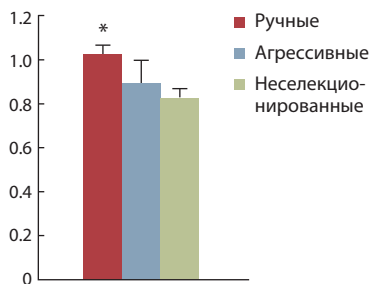
#### Обсуждение

Наши результаты показали, что в гиппокампе лисиц, как и у других видов (крыса, мышь и человек) (Cembrowski et al., 2016; Lee et al., 2017; Floriou-Servou et al., 2018; Vogel et al., 2020), прослеживаются значительные различия в количестве мРНК некоторых генов между дорзальным и вентральным участками. В целом эти различия согласуются с данными литературы по крысам и мышам (см. табл. 2).



**Рис. 3.** Относительное количество мРНК генов *CYP26B1* (а) и *ADRA1A* (б) в дорзальной части гиппокампа у ручных ( $n = 7$ ), агрессивных ( $n = 6$ ) и неселекционированных ( $n = 6$ ) лисиц.

##  $p < 0.01$  по сравнению с агрессивными лисицами; \*  $p < 0.05$  по сравнению с агрессивными и неселекционированными лисицами.



**Рис. 4.** Относительное количество мРНК *NR3C2* в вентральной части гиппокампа у ручных ( $n = 7$ ), агрессивных ( $n = 6$ ) и неселекционированных ( $n = 6$ ) лисиц.

\*  $p < 0.05$  по сравнению с неселекционированными лисицами.

Согласно недавним исследованиям с использованием данных экспрессии генов человека из Allen Brain Atlas, около 5 тысяч генов изменяют свою экспрессию вдоль дорзовентральной оси гиппокампа (Vogel et al., 2020). Среди них некоторые гены имеют линейное или приближенное к линейному изменение экспрессии и могут рассматриваться как маркеры положения вдоль оси, другие имеют нелинейные паттерны экспрессии.

Одним из маркеров, наиболее строго предсказывающих место на оси, является *NR2F2*, кодирующий фактор транскрипции COUP-TFII. У этого гена выявлено большее количество мРНК в вентральном гиппокампе по сравнению с дорзальным во всех проведенных исследованиях на крысах, мышах, человеке и в настоящем исследовании на лисицах. Его экспрессия во взрослом гиппокампе ограничена в основном ГАМК- и глутаматергическими нейронами (Jinno, Kosaka, 2010). Количество ГАМКергических нейронов повышается вдоль дорзовентральной оси (Jinno, Kosaka, 2010), так же как и экспрессия *NR2F2*. Однако, несмотря на это, экспрессия *NR2F2* в дорзальном гиппокампе преимущественно ограничена ГАМКергическими нейронами, что указывает на их высокую плотность и в дорзальной области (Fuentealba et al., 2010). Различная функция отделов гиппокампа может быть связана с распределением нейронов вдоль дорзовентральной оси. Известно, что экспрессия никотинового ацетилхолинового рецептора  $\alpha_7$  (*CHRNA7*) в гиппокампе, тоже ограниченная ГАМКергическими нейронами, участвует в регуляции агрессии (Lewis et al., 2018). Тем не менее различий в экспрессии *NR2F2* между поведенческими группами лисиц не обнаружено, что говорит о регуляции агрессии другими механизмами.

У некоторых генов в разных работах и у разных видов обнаружены противоположные отношения количества мРНК в дорзальном и вентральном гиппокампе или отсутствие различий у одних видов и наличие – у других (см. табл. 2). Например, в данном исследовании к таким генам относятся *KCND3* и *NTS*. Эти различия могут объясняться нелинейным паттерном экспрессии вдоль дорзовентральной оси, а значит, возможным влиянием взятия образцов из неравнозначных частей гиппокампа в разных экспериментах. В других случаях видоспецифичность экспрессии некоторых генов может быть связана с морфофункциональной видоспецифичностью самого гиппокампа. Например, гиппокампальный нейрогенез у лисиц значительно превышает нейрогенез ряда млекопитающих (Amrein, Slomianka, 2010). Причиной морфофизиологической видоспецифичности также могут быть экологические особенности видов, в частности с пространственным поведением при создании запасов пищи (Jacobs et al., 1990; Jacobs, Spencer, 1994; Rehkämper et al., 2008; Amrein, 2015; Croston et al., 2015; Lipp, 2017; Sonnenberg et al., 2019). Можно предположить, что и 15-кратный уровень гиппокампального нейрогенеза у рыжих лисиц по сравнению с собакой (Amrein, Slomianka, 2010) связан с пространственным поведением при создании запасов пищи, которое характерно для них, согласно (Sklepkovych, Montevecchi, 1996).

Поскольку гиппокамп, и особенно его вентральная часть, является ключевой структурой в регуляции стресс-ответа, было проведено исследование глюкокортикоидного ответа ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц современного этапа селекции. Важность изучения стресс-ответа на разных этапах селекции по поведению была показана на параллельной модели – ручных и агрессивных серых крысах, которые на данном этапе селекции не проявляют достоверных различий в глюкокортикоидном стресс-ответе (Прасолова и др., 2014). Обнаруженные достоверные различия между ручными, агрессивными и неселекционированными животными схожи с ранее полученными данными (Trut et al., 2009). Таким образом, можно видеть, что у экспериментальных лисиц рестрикционный и комбинированный рестрикционный и эмоциональный стресс приводят к одинаковым различиям в кортизолном стресс-ответе у поведенческих групп животных, которые сохраняются на данном этапе селекции. Однако неселекционированные животные имели промежуточный уровень глюкокортикоидного стресс-ответа по сравнению с ручными и агрессивными лисицами, тогда как в исследованиях прошлых лет уровень стресс-ответа агрессивных лисиц не отличался от неселекционированных. Эти расхождения могут быть связаны как с усилением стресс-ответа вследствие отбора на агрессивность, так и с процессом естественного отбора неселекционированных лисиц в сторону адаптации к сосуществованию с человеком. Кроме того, эти различия могут быть обусловлены разным дизайном эксперимента (рестрикционный стресс с ограничением передвижения в клетке против удержания на руках) и методикой измерения (радиоиммунный метод против ВЭЖХ).

Вероятно, пониженный ответ на стресс разного типа у ручных лисиц может быть основной причиной повышенного уровня нейрогенеза в гиппокампе взрослых лисиц, как показано в работах на других животных (Levone et al., 2015). Поэтому при поиске молекулярно-генетических механизмов изменений нейрогенеза мы в первую очередь обратили внимание на количество мРНК генов глюкокортикоидного (*NR3C1*, ГР) и минералокортикоидного (*NR3C2*, МР) рецепторов в гиппокампе. Однако различий в количестве мРНК *NR3C1* ни в дорзальной, ни в вентральной части гиппокампа между животными разного поведения не обнаружено, хотя разные группы исследователей рассматривали эти рецепторы как важные гены-кандидаты, связанные с домашикацией (Оськина и др., 2008; Pörtl, Jung, 2017). Известно, что клетки-предшественники нейронов в субвентрикулярной зоне экспрессируют *NR3C1*, но не *NR3C2* (García et al., 2004). По-видимому, активация *NR3C1* в этих клетках – механизм прямого влияния глюкокортикоидов на нейрогенез (Saaltink, Vreugdenhil, 2014). Возможно, в этой субпопуляции клеток гиппокампа существуют различия в экспрессии *NR3C1* у лисиц различного поведения.

В то же время количество мРНК гена *NR3C2* в вентральном гиппокампе оказалось больше у ручных лисиц, чем у агрессивных. Вероятно, у неселекционированных лисиц оно находится между ручными и агрессивными, однако это различие уже выходит за пределы определения методом количественной ПЦР. Однако, если исследовать отдельно сплайс-варианты, которых у грызунов известно три –  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , то различие между группами в экспрессии какого-то из сплайс-вариантов будет выше. Известно, что их экспрессия при клеточном стрессе может меняться неравномерно в первичной культуре клеток коры (Kang et al., 2009). В нашем исследовании был проанализирован только общий пул мРНК *NR3C2* из-за недостаточного аннотирования генома лисицы. Кроме того, количество рецептора *NR3C2* не одинаково в разных типах клеток гиппокампа (Le Menuet, Lombès, 2014). Важно отметить, что различия обнаружены именно в вентральном гиппокампе, который, по-видимому, в большей степени отвечает за регуляцию стресс-ответа и эмоций, чем дорзальный (Gulyaeva, 2019).

В ряде экспериментальных работ на грызунах было показано, что повышенное количество МР связано с пониженной тревожностью, активной стратегией преодоления стресса, а у самок – с ослаблением стресс-ответа (Lai et al., 2007; Rozeboom et al., 2007; Kanatsou et al., 2015; de Kloet et al., 2016). В *post mortem* исследованиях человека выявлено, что депрессия вызывает снижение МР в переднем (соответствует вентральному у грызунов), но не в заднем (дорзальному) гиппокампе, при этом ГР изменен не был (Medina et al., 2013). У крыс также обнаружено, что изменение экспрессии МР под действием стресса изменяет синаптическую пластичность в вентральном (но не дорзальном) гиппокампе (Maggio, Segal, 2009; O'Leary, Cryan, 2014). Повышение экспрессии *NR3C2* в нейроглии, вероятно, может повышать нейрогенез при остром стрессе в вентральном гиппокампе (Le Menuet, Lombès, 2014; O'Leary, Cryan, 2014). Известно также, что у нокаутных

*NR3C2* мышей пролиферация клеток-предшественников снижалась (Gass et al., 2000), а повышенная экспрессия *NR3C2* в переднем мозге приводила к повышенной пролиферации клеток-предшественников и увеличению количества молодых нейронов в зубчатой извилине гиппокампа (Kanatsou et al., 2017). С другой стороны, показано, что МР сигнализация в гиппокампе участвует в регуляции начала и величины стрессорной реакции (Ratka et al., 1989; Harris et al., 2013; de Kloet et al., 2016), а инициация стресса ведет к повышению количества МР в гиппокампе (Veenema et al., 2003; de Kloet et al., 2016). Противоположные эффекты МР, а также их агонистов и антагонистов могут быть связаны с разным количеством МР у животных в начале эксперимента (de Kloet et al., 2016). Вероятно, обнаруженное нами большее количество мРНК МР (но не ГР) в вентральном гиппокампе ручных лисиц является одним из механизмов снижения стресса и тревожности при экспериментальной домашикации, а возможно, опосредованно повышенным нейрогенезом в этой части гиппокампа. Однако дальнейшие исследования позволят получить данные об экспрессии сплайс-вариантов МР и распределении белка в гиппокампе.

У лисиц разного поведения были обнаружены различия в количестве мРНК генов *CYP26B1* (в дорзальном) и *ADRA1A* (в вентральном), которые, как упоминалось выше, различаются также вдоль дорзовентральной оси гиппокампа. На необходимость подробного изучения экспрессии *CYP26B1* в трех популяциях и в разных отделах гиппокампа указали различия в количестве мРНК, выявленные при анализе ограниченного количества образцов дорзального гиппокампа ручных и агрессивных лисиц методом RNAseq (неопубликованные данные). Ген *CYP26B1* кодирует фермент из суперсемейства цитохромов P450. Этот фермент катализирует деградацию политранскриптовой (птРК) кислоты, производной витамина А. Можно предположить, что изменение экспрессии гена *CYP26B1* ассоциировано с различной концентрацией птРК в гиппокампе ручных и агрессивных лисиц.

Известно, что птРК моделирует нейрогенез. Однако ее эффект проявляется в виде перевернутой U-образной кривой. Дефицит птРК приводит к снижению дифференциации нейронов, повышение концентрации – к усилению нейрогенеза как пролиферации, так и дифференциации нейральных стволовых клеток, а высокая концентрация птРК ингибирует пролиферацию клеток, при этом изменяются когнитивные функции и поведение (Kane et al., 2010; Hu et al., 2016, 2020; Stoney, McCaffery, 2016; Stoney et al., 2016; Mishra et al., 2018). Повышенная экспрессия гена *CYP26B1*, возможно, снижающая концентрацию птРК, ассоциирована с повышенным нейрогенезом в гиппокампе взрослых ручных лисиц, который был ранее показан (Huang et al., 2015). Полученные нами результаты, вероятно, сравнимы с негативным влиянием птРК на нейрогенез в исследованиях (Hu et al., 2016, 2020; Stoney et al., 2016). Ингибирование *CYP26B1* приводило к снижению пролиферации клеток в субгранулярной зоне гиппокампа у мышей (Stoney et al., 2016). Можно предположить, что у ручных лисиц количество птРК в гиппокампе находится на уровне, близком к максимуму, повышающему нейро-

генез. У агрессивных животных более низкая экспрессия гена *CYP26B1* связана с еще большим количеством птРК и, вероятно, снижением нейрогенеза. Неселекционированные лисицы со сниженным по сравнению с ручными нейрогенезом, по-видимому, находятся посередине между ручными и агрессивными. Следует отметить, что полногеномное сравнение деревенских собак с волками и человека с шимпанзе также выявило различия в системе птРК (Theofanopoulou et al., 2017; Pendleton et al., 2018).

В литературе описаны сложные и противоречивые эффекты витамина А и птРК на ГГНС. Показано, что дексаметазон повышает экспрессию гена *Aldh1a1* – фермента синтеза птРК (Gil-Ibáñez et al., 2014). Хроническое воздействие птРК и других форм РК приводит к повышению активности ГГНС и депрессии (Bremner, McCaffery, 2008; Cai et al., 2015). В частности, птРК вызывает гиперэкспрессию генов *Crf*, *Crf1* и *Aup* в гипоталамусе (Cai et al., 2015). Возможно, ослабление активности ГГНС у ручных лисиц частично связано с ослаблением системы птРК. Однако следует отметить, что РК может, напротив, снижать уровень глюкокортикоидов, которые, в свою очередь, могут иметь различные эффекты на ткани-мишени (Bonhomme et al., 2014; Hélène et al., 2016).

Интересным представляется обнаруженное повышенное количество мРНК *ADRA1A* в дорзальном гиппокампе ручных лисиц. Это изменение может отражать также сниженную тревожность и повышенный взрослый гиппокампальный нейрогенез вследствие ослабления активности ГГНС при отборе по поведению. Хотя дорзальный гиппокамп, по-видимому, в меньшей степени участвует в регуляции стресс-активности и тревожности, известное его влияние на эти процессы (Weaver et al., 2004; Gulyaeva, 2019). *ADRA1A* выступает в качестве гена-кандидата при синдроме дефицита внимания (Elia et al., 2009). Механизмы участия *ADRA1A* в регуляции поведения до конца не ясны, но известно, что долговременная стимуляция *ADRA1A* снижает депрессивно-подобное поведение и тревожность, а трициклические антидепрессанты повышают плотность рецептора *ADRA1A* в переднем мозге у грызунов (Deupree et al., 2007; Doze et al., 2009, 2011). Также в исследованиях второй, наряду с субгранулярной зоной гиппокампа, зоны взрослого нейрогенеза – субэпендима боковых желудочков на трансгенных мышах – была показана ассоциация повышенной экспрессии *ADRA1A* с повышенным уровнем нейрогенеза (Gupta et al., 2009). Возможно, *ADRA1A* связан также с нейрогенезом в гиппокампе (Doze et al., 2011).

## Заключение

Благодаря анализу отдельно дорзальной и вентральной частей гиппокампа лисиц, селекционируемых на различное поведение, мы обнаружили дифференциальную экспрессию генов *NR3C2*, *CYP26B1* и *ADRA1A*, связанных как с нейрогенезом в гиппокампе, так и с регуляцией ГГНС. Дальнейшее исследование экспрессии функциональных групп этих генов, вероятно, прольет свет на неизвестные ранее молекулярно-генетические механизмы одомашивания, в частности на снижение стресс-ответа, повышение нейрогенеза и изменение поведения по отношению к человеку у одомашиваемых животных.

## Список литературы / References

- Квичанский А.А., Волобуева М.Н., Манолова А.О., Большаков А.П., Гуляева Н.В. Неонатальный провоспалительный стресс изменяет экспрессию генов кортикостероидных рецепторов в гиппокампе крыс: септо-темпоральные различия. *Нейрохимия*. 2017;34(3):257-260. DOI 10.7868/S1027813317030050. [Kvichansky A.A., Volobueva M.N., Manolova A.O., Bolshakov A.P., Gulyaeva N.V. Neonatal proinflammatory stress alters the expression of genes of corticosteroid receptors in the rat hippocampus: septo-temporal differences. *Neurochem. J.* 2017;11(3):255-258. DOI 10.1134/S1819712417030059.]
- Овчинников В.Ю., Антонов Е.В., Васильев Г.В., Шихевич С.Г., Шепелева Д.В., Гербек Ю.Э. Исследование экспрессии генов рецептора глюкокортикоидов и микроРНК в гиппокампе и концентрации кортизола в крови у лисиц, селекционируемых по реакции на человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(2):230-234. DOI 10.18699/VJ18.352. [Ovchinnikov V.Yu., Antonov E.V., Vasilyev G.V., Shihevich S.G., Shepeleva D.V., Herbeck Yu.E. Hippocampal glucocorticoid receptor and microRNA gene expression and serum cortisol concentration in foxes selected for behavior toward humans. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(2):230-234. DOI 10.18699/VJ18.352. (in Russian)]
- Оськина И.Н., Гербек Ю.Э., Шихевич С.Г., Плюснина И.З., Гулевич Р.Г. Изменения в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе при отборе животных на одомашивание. *Информ. вестн. ВОГуС*. 2008;12(1/2):39-49. [Oskina I.N., Herbeck Yu.E., Shikhevich S.G., Plyusnina I.Z., Gulevich R.G. Alterations in the hypothalamus-pituitary-adrenal and immune systems during selection of animals for tame behavior. *Informatsionny Vestnik VOGiS = The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeders*. 2008;12(1/2):39-49. (in Russian)]
- Прасолова Л.А., Гербек Ю.Э., Гулевич Р.Г., Шихевич С.Г., Коношенко М.Ю., Кожемякина Р.В., Оськина И.Н., Плюснина И.З. Эффекты длительного отбора по поведению на стресс-ответ и активность половой системы самцов серых крыс (*Rattus norvegicus*). *Генетика*. 2014;50(8):959-966. DOI 10.7868/S0016675814080037. [Prasolova L.A., Gerbek Yu.E., Gulevich R.G., Shikhevich S.G., Konoshenko M.Y., Kozhemyakina R.V., Oskina I.N., Plyusnina I.Z. The effects of prolonged selection for behavior on the stress response and activity of the reproductive system of male grey rats (*Rattus norvegicus*). *Russ. J. Genet.* 2014;50(8):846-852. DOI 10.1134/S1022795414080031.]
- Трут Л.Н., Плюснина И.З., Оськина И.Н. Эксперимент по одомашиванию лисиц и дискуссионные вопросы эволюции собак. *Генетика*. 2004;40(6):794-807. DOI 10.31857/S0016675821070146. [Trut L.N., Plyusnina I.Z., Oskina I.N. An experiment on fox domestication and debatable issues of evolution of the dog. *Russ. J. Genet.* 2004;40(6):644-655. DOI 10.1023/B:RUGE.0000033312.92773.c1.]
- Трут Л.Н., Харламова А.В., Пилипенко А.С., Гербек Ю.Э. Эксперимент по одомашиванию лисиц и эволюция собак с позиции современных молекулярно-генетических и археологических данных. *Генетика*. 2021;57(7):767-785. DOI 10.31857/S0016675821070146. [Trut L.N., Kharlamova A.V., Pilipenko A.S., Herbeck Yu.E. The fox domestication experiment and dog evolution: a view based on modern molecular, genetic, and archaeological data. *Russ. J. Genet.* 2021;57(7):778-794. DOI 10.1134/S1022795421070140.]
- Amrein I. Adult hippocampal neurogenesis in natural populations of mammals. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015;7(5):a021295. DOI 10.1101/cshperspect.a021295.
- Amrein I., Slomianka L. A morphologically distinct granule cell type in the dentate gyrus of the red fox correlates with adult hippocampal neurogenesis. *Brain Res.* 2010;1328:12-24. DOI 10.1016/j.brainres.2010.02.075.



- Andersen C.L., Jensen J.L., Ørntoft T.F. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer Res.* 2004;64:5245-5250. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-04-0496.
- Belyaev D.K. Destabilizing selection as a factor in domestication. *J. Hered.* 1979;70(5):301-308. DOI 10.1093/oxfordjournals.jhered.a109263.
- Bonhomme D., Minni A.M., Alfos S., Roux P., Richard E., Higuieret P., Moisan M.P., Pallet V., Touyarot K. Vitamin A status regulates glucocorticoid availability in Wistar rats: consequences on cognitive functions and hippocampal neurogenesis? *Front. Behav. Neurosci.* 2014;8:20. DOI 10.3389/fnbeh.2014.00020.
- Bremner J.D., McCaffery P. The neurobiology of retinoic acid in affective disorders. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2008;32(2):315-331. DOI 10.1016/j.pnpbp.2007.07.001.
- Cai L., Li R., Zhou J.N. Chronic all-trans retinoic acid administration induces CRF over-expression accompanied by AVP up-regulation and multiple CRF-controlling receptors disturbance in the hypothalamus of rats. *Brain Res.* 2015;1601:1-7. DOI 10.1016/j.brainres.2014.12.054.
- Cembrowski M.S., Wang L., Sugino K., Shields B.C., Spruston N. HippoSeq: a comprehensive RNA-seq database of gene expression in hippocampal principal neurons. *eLife.* 2016;5:e14997. DOI 10.7554/eLife.14997.001.
- Corradini B.R., Iamashita P., Tampellini E., Farfel J.M., Grinberg L.T., Moreira-Filho C.A. Complex network-driven view of genomic mechanisms underlying Parkinson's disease: analyses in dorsal motor vagal nucleus, locus coeruleus, and substantia nigra. *BioMed Res. Int.* 2014;2014:543673. DOI 10.1155/2014/543673.
- Croston R., Branch C.L., Kozlovsky D.Y., Roth T.C., LaDage L.D., Freas C.A., Pravosudov V.V. Potential mechanisms driving population variation in spatial memory and the hippocampus in food-caching chickadees. *Integr. Comp. Biol.* 2015;55(3):354-371. DOI 10.1093/icb/icc029.
- de Kloet E.R., Otte C., Kumsta R., Kok L., Hillegers M.H.J., Hasselmann H., Kliegel D., Joëls M. Stress and depression: a crucial role of the mineralocorticoid receptor. *J. Neuroendocrinol.* 2016;28(8). DOI 10.1111/jne.12379.
- de Martino M.U., Alesci S., Chrousos G.P., Kino T. Interaction of the glucocorticoid receptor and the chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor II (COUP-TFII): implications for the actions of glucocorticoids on glucose, lipoprotein, and xenobiotic metabolism. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004;1024:72-85. DOI 10.1196/annals.1321.006.
- Deupree J.D., Reed A.L., Bylund D.B. Differential effects of the tricyclic antidepressant desipramine on the density of adrenergic receptors in juvenile and adult rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2007;321(2):770-776. DOI 10.1124/jpet.106.118935.
- Doze V.A., Handel E.M., Jensen K.A., Darsie B., Luger E.J., Haselton J.R., Talbot J.N., Rorabaugh B.R.  $\alpha$ 1A- and  $\alpha$ 1B-adrenergic receptors differentially modulate antidepressant-like behavior in the mouse. *Brain Res.* 2009;1285:148-157. DOI 10.1016/j.brainres.2009.06.035.
- Doze V.A., Papay R.S., Goldenstein B.L., Gupta M.K., Collette K.M., Nelson B.W., Lyons M.J., Davis B.A., Luger E.J., Wood S.G., Haselton J.R., Simpson P.C., Perez D.M. Long-term  $\alpha$ 1A-adrenergic receptor stimulation improves synaptic plasticity, cognitive function, mood, and longevity. *Mol. Pharmacol.* 2011;80(4):747-758. DOI 10.1124/mol.111.073734.
- Elia J., Capasso M., Zaheer Z., Lantieri F., Ambrosini P., Berrettini W., Devoto M., Hakonarson H. Candidate gene analysis in an on-going genome-wide association study of attention-deficit hyperactivity disorder: suggestive association signals in ADRA1A. *Psychiatr. Genet.* 2009;19(3):134-141. DOI 10.1097/YPG.0b013e32832a5043.
- Floriou-Servou A., von Ziegler L., Stalder L., Sturman O., Privitera M., Rassi A., Cremonesi A., Thöny B., Bohacek J. Distinct proteomic, transcriptomic, and epigenetic stress responses in dorsal and ventral hippocampus. *Biol. Psychiatry.* 2018;84(7):531-541. DOI 10.1016/j.biopsych.2018.02.003.
- Fuentealba P., Klausberger T., Karayannis T., Suen W.Y., Huck J., Tomioka R., Rockland K., Capogna M., Studer M., Morales M., Somogyi P. Expression of COUP-TFII nuclear receptor in restricted GABAergic neuronal populations in the adult rat hippocampus. *J. Neurosci.* 2010;30(5):1595-1609. DOI 10.1523/JNEUROSCI.4199-09.2010.
- Garcia A., Steiner B., Kronenberg G., Bick-Sander A., Kempermann G. Age-dependent expression of glucocorticoid- and mineralocorticoid receptors on neural precursor cell populations in the adult murine hippocampus. *Aging Cell.* 2004;3(4):363-371. DOI 10.1111/j.1474-9728.2004.00130.x.
- Gass P., Kretz O., Wolfer D.P., Berger S., Tronche F., Reichardt H.M., Kellendonk C., Lipp H.P., Schmid W., Schütz G. Genetic disruption of mineralocorticoid receptor leads to impaired neurogenesis and granule cell degeneration in the hippocampus of adult mice. *EMBO Rep.* 2000;1(5):447-451. DOI 10.1093/embo-reports/kvd088.
- Gil-Ibáñez P., Bernal J., Morte B. Thyroid hormone regulation of gene expression in primary cerebrocortical cells: role of thyroid hormone receptor subtypes and interactions with retinoic acid and glucocorticoids. *PLoS One.* 2014;9(3):e91692. DOI 10.1371/journal.pone.0091692.
- Gulyaeva N.V. Functional neurochemistry of the ventral and dorsal hippocampus: stress, depression, dementia and remote hippocampal damage. *Neurochem. Res.* 2019;44:1306-1322. DOI 10.1007/s11064-018-2662-0.
- Gupta M.K., Papay R.S., Jurgens C.W.D., Gaivin R.J., Shi T., Doze V.A., Perez D.M.  $\alpha$ 1-Adrenergic receptors regulate neurogenesis and gliogenesis. *Mol. Pharmacol.* 2009;76(2):314-326. DOI 10.1124/mol.109.057307.
- Haddjeri-Hopkins A., Tapia M., Ramirez-Franco J., Tell F., Marqueze-Pouey B., Amalric M., Goillard J.M. Refining the identity and role of Kv4 channels in mouse substantia nigra dopaminergic neurons. *eNeuro.* 2021;8(4):ENEURO.0207-21.2021. DOI 10.1523/ENEURO.0207-21.2021.
- Harris A.P., Holmes M.C., De Kloet E.R., Chapman K.E., Seckl J.R. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor balance in control of HPA axis and behaviour. *Psychoneuroendocrinol.* 2013;38(5):648-658. DOI 10.1016/j.psyneuen.2012.08.007.
- Hélène R., Julie B., Aloïs L., Marie-Pierre M., Véronique P., Anabelle R., Jean-Benoît C. Retinoids and glucocorticoids have opposite effects on actin cytoskeleton rearrangement in hippocampal HT22 cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2016;71:102-110. DOI 10.1016/j.biocel.2015.12.014.
- Hu P., Wang Y., Liu J., Meng F.T., Qi X.R., Chen L., van Dam A.M., Joëls M., Lucassen P.J., Zhou J.N. Chronic retinoic acid treatment suppresses adult hippocampal neurogenesis, in close correlation with depressive-like behavior. *Hippocampus.* 2016;26(7):911-923. DOI 10.1002/hipo.22574.
- Hu P., van Dam A.M., Wang Y., Lucassen P.J., Zhou J.N. Retinoic acid and depressive disorders: evidence and possible neurobiological mechanisms. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2020;112:376-391. DOI 10.1016/j.neubiorev.2020.02.013.
- Huang S., Slomianka L., Farmer A.J., Kharlamova A.V., Gulevich R.G., Herbeck Yu.E., Trut L.N., Wolfer D.P., Amrein I. Selection for tameness, a key behavioral trait of domestication, increases adult hippocampal neurogenesis in foxes. *Hippocampus.* 2015;25(8):963-975. DOI 10.1002/hipo.22420.
- Jacobs L.F., Spencer W.D. Natural space-use patterns and hippocampal size in kangaroo rats. *Brain Behav. Evol.* 1994;44(3):125-132. DOI 10.1159/000113584.
- Jacobs L.F., Gaulin S.J., Sherry D.F., Hoffman G.E. Evolution of spatial cognition: sex-specific patterns of spatial behavior predict hippocampal size. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990;87(16):6349-6352. DOI 10.1073/pnas.87.16.6349.

- Jinno S., Kosaka T. Stereological estimation of numerical densities of glutamatergic principal neurons in the mouse hippocampus. *Hippocampus*. 2010;20(7):829-840. DOI 10.1002/hipo.20685.
- Kanatsou S., Fearey B.C., Kuil L.E., Lucassen P.J., Harris A.P., Seckl J.R., Krugers H., Joels M. Overexpression of mineralocorticoid receptors partially prevents chronic stress-induced reductions in hippocampal memory and structural plasticity. *PLoS One*. 2015; 10(11):e0142012. DOI 10.1371/journal.pone.0142012.
- Kanatsou S., Karst H., Kortessidou D., van den Akker R.A., den Blaauwen J., Harris A.P., Seckl J.R., Krugers H.J., Joels M. Overexpression of mineralocorticoid receptors in the mouse forebrain partly alleviates the effects of chronic early life stress on spatial memory, neurogenesis and synaptic function in the dentate gyrus. *Front. Cell. Neurosci*. 2017;11:132. DOI 10.3389/fncel.2017.00132.
- Kane M.A., Foliás A.E., Wang C., Napoli J.L. Ethanol elevates physiological *all-trans*-retinoic acid levels in select loci through altering retinoid metabolism in multiple loci: a potential mechanism of ethanol toxicity. *FASEB J*. 2010;24(3):823-832. DOI 10.1096/fj.09-141572.
- Kang P., Rogalska J., Walker C.A., Burke M., Seckl J.R., Macleod M.R., Lai M. Injury-induced mineralocorticoid receptor expression involves differential promoter usage: a novel role for the rat MR $\beta$  variant. *Mol. Cell. Endocrinol*. 2009;305(1-2):56-62. DOI 10.1016/j.mce.2009.02.008.
- Kukekova A.V., Johnson J.L., Xiang X., Feng S., Liu S., Rando H.M., Kharlamova A.V., Herbeck Yu., Serdyukova N.A., Xiong Z., Beklemisheva V., Koepfli K.-P., Gulevich R.G., Vladimirova A.V., Hekman J.P., Perelman P.L., Graphodatsky A.S., O'Brien S.J., Wang X., Clark A.G., Acland G.A., Trut L.N., Zhang G. Red fox genome assembly identifies genomic regions associated with tame and aggressive behaviours. *Nat. Ecol. Evol*. 2018;2(9):1479-1491. DOI 10.1038/s41559-018-0611-6.
- Lai M., Horsburgh K., Bae S.E., Carter R.N., Stenvers D.J., Fowler J.H., Yau J.L., Gomez-Sanchez C.E., Holmes M.C., Kenyon C.J., Seckl J.R., Macleod M.R. Forebrain mineralocorticoid receptor overexpression enhances memory, reduces anxiety and attenuates neuronal loss in cerebral ischaemia. *Eur. J. Neurosci*. 2007;25(6): 1832-1842. DOI 10.1111/j.1460-9568.2007.05427.x.
- Le Menuet D., Lombès M. The neuronal mineralocorticoid receptor: from cell survival to neurogenesis. *Steroids*. 2014;91:11-19. DOI 10.1016/j.steroids.2014.05.018.
- Lee A.-R., Kim J.-H., Cho E., Kim M., Park M. Dorsal and ventral hippocampus differentiate in functional pathways and differentially associate with neurological disease-related genes during postnatal development. *Front. Mol. Neurosci*. 2017;10:331. DOI 10.3389/fnmol.2017.00331.
- Levone B.R., Cryan J.F., O'Leary O.F. Role of adult hippocampal neurogenesis in stress resilience. *Neurobiol. Stress*. 2015;1:147-155. DOI 10.1016/j.ynstr.2014.11.003.
- Lewis A.S., Pittenger S.T., Mineur Y.S., Stout D., Smith P.H., Picciotto M.R. Bidirectional regulation of aggression in mice by hippocampal alpha-7 nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(6):1267-1275. DOI 10.1038/npp.2017.276.
- Lipp H.P. Evolutionary shaping of adult hippocampal neurogenesis in mammals-cognitive gain or developmental priming of personality traits? *Front. Neurosci*. 2017;11:420. DOI 10.3389/fnins.2017.00420.
- Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup>  method. *Methods*. 2001;25(4):402-408. DOI 10.1006/meth.2001.1262.
- Lowe A., Dalton M., Sidhu K., Sachdev P., Reynolds B., Valenzuela M. Neurogenesis and precursor cell differences in the dorsal and ventral adult canine hippocampus. *Neurosci. Lett*. 2015;593:107-113. DOI 10.1016/j.neulet.2015.03.017.
- Maggio N., Segal M. Differential modulation of long-term depression by acute stress in the rat dorsal and ventral hippocampus. *J. Neurosci*. 2009;29(27):8633-8638. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1901-09.2009.
- Medina A., Seasholtz A.F., Sharma V., Burke S., Bunney W., Jr., Myers R.M., Schatzberg A., Akil H., Watson S.J. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor expression in the human hippocampus in major depressive disorder. *J. Psychiatr. Research*. 2013;47(3): 307-314. DOI 10.1016/j.jpsychires.2012.11.002.
- Ming G., Song H. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron*. 2011;70(4):687-702. DOI 10.1016/j.neuron.2011.05.001.
- Mishra S., Kelly K.K., Rumian N.L., Siegenthaler J.A. Retinoic acid is required for neural stem and progenitor cell proliferation in the adult hippocampus. *Stem Cell Rep*. 2018;10(6):1705-1720. DOI 10.1016/j.stemcr.2018.04.024.
- O'Leary O.F., Cryan J.F. A ventral view on antidepressant action: roles for adult hippocampal neurogenesis along the dorsoventral axis. *Trends Pharmacol. Sci*. 2014;35(12):675-687. DOI 10.1016/j.tips.2014.09.011.
- O'Rourke T., Boeckx C. Glutamate receptors in domestication and modern human evolution. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 2020;108:341-357. DOI 10.1016/j.neubiorev.2019.10.004.
- Pendleton A.L., Shen F., Taravella A.M., Emery S., Veeramah K.R., Boyko A.R., Kidd J.M. Comparison of village dog and wolf genomes highlights the role of the neural crest in dog domestication. *BMC Biol*. 2018;16(1):e64. DOI 10.1186/s12915-018-0535-2.
- Pörtl D., Jung C. Is dog domestication due to epigenetic modulation in brain? *Dog Behav*. 2017;3(2):21-32. DOI 10.4454/db.v3i2.55.
- Price E.O. *Animal Domestication and Behavior*. Oxford; New York: Oxford Univ. Press, 2002.
- Ratka A., Sutanto W., Bloemers M., de Kloet E.R. On the role of brain mineralocorticoid (type I) and glucocorticoid (type II) receptors in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology*. 1989;50(2):117-123. DOI 10.1159/000125210.
- Rehkämper G., Frahm H.D., Cnotka J. Mosaic evolution and adaptive brain component alteration under domestication seen on the background of evolutionary theory. *Brain Behav. Evol*. 2008;71(2):115-126. DOI 10.1159/000111458.
- Rozeboom A.M., Akil H., Seasholtz A.F. Mineralocorticoid receptor overexpression in forebrain decreases anxiety-like behavior and alters the stress response in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104(11):4688-4693. DOI 10.1073/pnas.0606067104.
- Saaltink D.J., Vreugdenhil E. Stress, glucocorticoid receptors, and adult neurogenesis: a balance between excitation and inhibition? *Cell. Mol. Life Sci*. 2014;71:2499-2515. DOI 10.1007/s00018-014-1568-5.
- Sklepkovych B.O., Montevecchi W.A. Food availability and food hoarding behaviour by red and arctic foxes. *Arctic*. 1996;49(3): 228-234. DOI 10.14430/arctic1199.
- Sonnenberg B.R., Branch C.L., Pitera A.M., Bridge E., Pravosudov V.V. Natural selection and spatial cognition in wild food-caching mountain chickadees. *Curr. Biol*. 2019;29(4):670-676. DOI 10.1016/j.cub.2019.01.006.
- Stoney P.N., McCaffery P. A vitamin on the mind: new discoveries on control of the brain by vitamin A. *World Rev. Nutr. Diet*. 2016;115: 98-108. DOI 10.1159/000442076.
- Stoney P.N., Fragoso Y.D., Saeed R.B., Ashton A., Goodman T., Simons C., Goma M.S., Sementilli A., Sementilli L., Ross A.W., Morgan P.J., McCaffery P.J. Expression of the retinoic acid catabolic enzyme CYP26B1 in the human brain to maintain signaling homeostasis. *Brain Struct. Funct*. 2016;221:3315-3326. DOI 10.1007/s00429-015-1102-z.
- Theofanopoulou C., Gastaldon S., O'Rourke T., Samuels B.D., Messner A., Martins P.T., Delogu F., Alamri S., Boeckx C. Self-domestication in *Homo sapiens*: insights from comparative genomics. *PLoS One*. 2017;12(10):e0185306. DOI 10.1371/journal.pone.0185306.
- Todorov O.S., Weisbecker V., Gilissen E., Zilles K., De Sousa A.A. Primate hippocampus size and organization are predicted by sociality but not diet. *Proc. Royal Soc. B*. 2019;286(1914):20191712. DOI 10.1098/rspb.2019.1712.

- Trut L., Oskina I., Kharlamova A. Animal evolution during domestication: the domesticated fox as a model. *BioEssays*. 2009;31(3):349-360. DOI 10.1002/bies.200800070.
- Truvé K., Parris T.Z., Vizlin-Hodzic D., Salmela S., Berger E., Ågren H., Funa K. Identification of candidate genetic variants and altered protein expression in neural stem and mature neural cells support altered microtubule function to be an essential component in bipolar disorder. *Transl. Psychiatry*. 2020;10(1):e390. DOI 10.1038/s41398-020-01056-1.
- Tzakis N., Holahan M.R. Social memory and the role of the hippocampal CA2 region. *Front. Behav. Neurosci*. 2019;13:233. DOI 10.3389/fnbeh.2019.00233.
- Veenema A.H., Neumann I.D. Neurobiological mechanisms of aggression and stress coping: a comparative study in mouse and rat selection lines. *Brain Behav. Evol.* 2007;70(4):274-285. DOI 10.1159/000105491.
- Veenema A.H., Meijer O.C., de Kloet E.R., Koolhaas J.M. Genetic selection for coping style predicts stressor susceptibility. *J. Neuroendocrinol.* 2003;15:256-267. DOI 10.1046/j.1365-2826.2003.00986.x.
- Vogel J.W., La Joie R., Grothe M.J., Diaz-Papkovich A., Doyle A., Vachon-Presseau E., Lepage C., Vos de Wael R., Thomas R.A., Iturria-Medina Y., Bernhardt B., Rabinovici G.D., Evans A.C. A molecular gradient along the longitudinal axis of the human hippocampus informs large-scale behavioral systems. *Nat. Commun.* 2020;11(1):960. DOI 10.1038/s41467-020-14518-3.
- Weaver I.C.G., Cervoni N., Champagne F.A., D'Alessio A.C., Sharma S., Seckl J.R., Dymov S., Szyf M., Meaney M.J. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat. Neurosci.* 2004;7:847-854. DOI 10.1038/nn1276.
- Xiao F., Zhang X., Ni P., Yu H., Gao Q., Li M., Huo P., Wei Z., Wang S., Zhang Y., Zhao R., Li A., Li Z., Li Yu., Cheng H., Du L., Ren S., Yu Q., Liu Ya., Zhao Yu. Voltage-dependent potassium channel Kv4.2 alleviates the ischemic stroke impairments through activating neurogenesis. *Neurochem. Int.* 2021;50:e105155. DOI 10.1016/j.neuint.2021.105155.
- Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T.L. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinform.* 2012;13:134. DOI 10.1186/1471-2105-13-134.

---

**Благодарности.** Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 21-44-04405). Содержание и разведение экспериментальных животных в ЦКП «Генофонды пушных и сельскохозяйственных животных» ИЦиГ СО РАН поддерживалось бюджетным проектом № FWNR-2022-0019. Авторы выражают благодарность начальнику ЦКП В.В. Ивайкину, вед. инженеру А.В. Владимировой, ст. лаборанту И.В. Пивоваровой, ст. лаборанту Т.И. Семёновой, бригадирам звероводов В.И. Владимировой и Т.В. Коноваловой и всему персоналу ЦКП «Генофонды пушных и сельскохозяйственных животных» ИЦиГ СО РАН за помощь в исследовании, сохранении и разведении уникальной популяции экспериментальных лисиц, а также рецензентам, внесшим существенный вклад в улучшение статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 01.12.2022. После доработки 18.06.2023. Принята к публикации 30.06.2023.