

doi 10.18699/vjgb-25-92

Эндогенный окситоцин и межсамцовые взаимодействия после введения окситоцина у серых крыс, селекционируемых по поведению

С.Г. Шихевич ¹, Р.В. Кожемякина ¹, Р.Г. Гулевич ¹, Ю.Э. Гербек ^{1, 2}¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия² Хайфский университет, Хайфа, Израиль shikhsvt@bionet.nsc.ru

Аннотация. Известно, что нейропептид окситоцин (ОТ), секретируемый специализированными нейронами в гипоталамусе, оказывает дозозависимое влияние на социальное поведение и агрессию у различных видов животных. Ранее нами было показано, что у взрослых и неполовозрелых самцов серых крыс, селекционируемых на усиление агрессивного поведения по отношению к человеку, назальные аппликации окситоцина вызывали антиагрессивный эффект по отношению к оппоненту в тесте резидент–интродер, в то время как у крыс, селекционируемых на ручное поведение, аппликации окситоцина или не влияли на поведение, или вызывали усиление агрессивности. Однако оставалось неизвестным, как влияет отбор по поведению на эндогенную окситоцинергическую систему у крыс. В данной работе исследовали количество содержащих окситоцин клеток в паравентрикулярном (ПВЯ) и супраоптическом (СОЯ) ядрах гипоталамуса у интактных ручных и агрессивных крыс, учитывая фактор латерализации, поскольку было известно о функциональной асимметрии гипоталамуса. Наряду с этим оценивали, как изменяется уровень окситоцина в крови после назальных аппликаций этого нейропептида у крыс, селекционируемых по поведению. Так как эффекты окситоцина на агрессивность крыс могут зависеть от степени ее проявления, в данной работе исследовали влияние аппликаций окситоцина на поведение у ручных и агрессивных крыс при взаимодействии на нейтральной территории, где агрессивность самцов проявляется слабее, чем при защите собственной территории в тесте резидент–интродер. Показано, что только для ручных крыс характерна асимметрия по количеству содержащих окситоцин клеток, локализованных в правых и левых частях СОЯ и ПВЯ гипоталамуса. Причем количество таких клеток в правой половине СОЯ у ручных крыс оказалось больше, чем у агрессивных, в то время как уровень окситоцина в крови у ручных крыс как в контрольной группе, так и после аппликаций окситоцина, напротив, был достоверно ниже, чем у агрессивных. Аппликации окситоцина у агрессивных крыс вызывали уменьшение продолжительности агрессивных взаимодействий и боковых стоек угроз, а также количества последних по сравнению с животными того же поведения, получающими физраствор, что может свидетельствовать об антиагрессивном эффекте окситоцина, тогда как у ручных крыс аппликации окситоцина, наоборот, приводили к увеличению количества ударов задними лапами и их продолжительности. По-видимому, найденные нами различия в эндогенной окситоцинергической системе гипоталамуса могут быть связаны и с поведением, сформированным в процессе отбора, и с различной реакцией на введение окситоцина у ручных и агрессивных крыс.

Ключевые слова: окситоцин; отбор; поведение; крысы; агрессивность; иммуногистохимия; гипоталамус

Для цитирования: Шихевич С.Г., Кожемякина Р.В., Гулевич Р.Г., Гербек Ю.Э. Эндогенный окситоцин и межсамцовые взаимодействия после введения окситоцина у серых крыс, селекционируемых по поведению. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(6):847-855. doi 10.18699/vjgb-25-92

Финансирование. Содержание использованных линий крыс в виварии конвенциональных животных ИЦиГ СО РАН (Новосибирск) поддерживалось бюджетным проектом FWNR-0259-2022-0019.

Исследование эндогенной окситоцинергической системы и поведения у серых крыс после введения окситоцина проводилось при поддержке гранта РНФ 21-44-04405.

Благодарности. Выражаем благодарность ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (<http://www.bionet.nsc.ru/microscopy/>) за предоставленное оборудование, а также А.А. Сорокоумовой за помощь в оформлении рисунков.

Вклад авторов. Идея работы и планирование эксперимента (Ю.Э.Г., Р.Г.Г.), сбор данных (С.Г.Ш., Р.В.К.), обработка данных (С.Г.Ш.), написание и редактирование манускрипта (С.Г.Ш., Р.В.К., Р.Г.Г., Ю.Э.Г.).

Endogenous oxytocin and intermale interactions after oxytocin administrations in Norway rats selected for behavior

S.G. Shikhevich ¹, R.V. Kozhemyakina ¹, R.G. Gulevich ¹, Yu.E. Herbeck ^{1, 2}

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² University of Haifa, Haifa, Israel

 shikhsvt@bionet.nsc.ru

Abstract. The neuropeptide oxytocin (OT) secreted by specialized neurons in the hypothalamus affects social behavior and aggression in various animal species in a dose-dependent manner. Our earlier studies showed that OT administration by nasal application to adult and adolescent Norway rat males selected for enhanced aggressive response to humans reduced aggression upon the opponent in the resident-intruder test. By contrast, OT administration to rats selected for tame behavior exerted no effect on behavior or even enhanced aggression. It was still unknown how selection for behavior affected the endogenous oxytocinergic system in rats. Here we study the populations of OT-containing cells in the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus in intact tame and aggressive rats with regard to lateralization, as the hypothalamus is known to be functionally asymmetrical. We have also assessed blood OT changes after nasal OT application to rats selected for behavior. As it is known that the effect of OT on rat aggressiveness may depend on the basal level of the latter, we have analyzed the effect of OT administration on behavior in tame and aggressive rats interacting on neutral ground, where the aggressiveness of males manifests itself less than in the defense of territory in the resident-intruder test. The asymmetry in the numbers of OT-containing cells in the left and right halves of the paraventricular and supraoptic nuclei has been observed only in tame rats. The number of such cells in the right half of tame rats is greater than in aggressive. In contrast, the blood OT level in tame rats is significantly lower than in aggressive ones both in the intact animals and after OT administration. Oxytocin administration to aggressive rats shortens aggressive interactions and lateral threats and reduces the number of the latter as compared to animals of the same behavior pattern having received saline. This observation may point to an anti-aggressive effect of OT. In tame rats, though, OT administration increases the number of hind leg kicks and kicking duration. It appears that the differences in the endogenous OTergic system of hypothalamus found in this study are associated with both the behavior formed during selection and different responses to exogenous OT in tame and aggressive animals.

Key words: oxytocin; selection; behavior; rat; aggressiveness; immunohistochemistry; hypothalamus

For citation: Shikhevich S.G., Kozhemyakina R.V., Gulevich R.G., Herbeck Yu.E. Endogenous oxytocin and intermale interactions after oxytocin administrations in Norway rats selected for behavior. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektсии* = *Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(6):847-855. doi 10.18699/vjgb-25-92

Введение

Длительное время гормон окситоцин ассоциировался исключительно с репродуктивной функцией, материнским поведением и грудным вскармливанием. Исследования всего спектра физиологических эффектов данного гормона приобрели широкое развитие в середине XX века. Результаты, полученные на животных, а позднее и на человеке, свидетельствуют о том, что окситоцин играет важную роль в снижении тревожности (Neumann, Slaterry, 2016; Yoon, Kim, 2020; Takayanagi, Onaka, 2021) и агрессии (Calcagnoli et al., 2013; de Jong, Neumann, 2018; Herbeck, Gulevich, 2019; Marsh et al., 2021), а также улучшении памяти и обучаемости (Aydogan et al., 2018).

Гипоталамический нейрпептид окситоцин синтезируется прежде всего в нейронах паравентрикулярного (ПВЯ) и супраоптического (СОЯ) ядер гипоталамуса, затем транспортируется по аксонам в задний отдел гипофиза, где хранится в везикулах до момента высвобождения в системный кровоток (Castel et al., 1984). Наряду с этим окситоцин по коллатеральным аксонам гипоталамо-нейрогипофизарного тракта попадает в различные отделы переднего мозга, где экспрессируются рецепторы к нему, и оказывает влияние на разные поведенческие аспекты (Jurek, Neumann, 2018;

Grinevich, Neumann, 2021). В ответ на физиологические стимулы (роды, лактация, стресс, эмоции) происходит быстрый выброс предварительно накопленного окситоцина как в кровь, так и в различные отделы мозга (Eliava et al., 2016; Tang et al., 2020; Grinevich, Neumann, 2021).

В формировании мотиваций и иницировании поведения основополагающую роль играет гипоталамус (Симонов, 1987, 1993; Судаков, 1993). В литературе имеются немногочисленные данные о функциональной асимметрии гипоталамуса (Павлова, 2001; Kiss, 2020). В частности, при сопоставлении эффективности стимуляции правой и левой частей гипоталамуса у кроликов методом сопряженной импульсации нейронов с целью вызова мотивационных и эмоциональных реакций отмечено, что наиболее эффективной для вызова оборонительной мотивации была левая часть гипоталамуса, а для получения эмоционально-положительных реакций – правая часть гипоталамуса (Павлова, 2001). Исследуемые нами серые крысы, селекционируемые по отношению к человеку, существенно отличаются по оборонительной реакции на перчатку экспериментатора, что может быть связано с особенностями локализации нейронов, секретирующих окситоцин, у этих животных.

Показано, что интраназальное введение окситоцина самцам крыс Вистар и C57Bl/6 мышей через 70 мин вызывает параллельное повышение уровня окситоцина как в крови, так и в диализатах дорзального гиппокампа и миндалины. I. Neumann с коллегами утверждают (2013), что экзогенный окситоцин, введенный интраназально, достигает областей мозга, в дозах, значимых для регуляции поведения.

Согласно данным, полученным на серых крысах Groningen дикого типа (из популяции в Гронинген, Нидерланды), которые отличаются от крыс лабораторных линий повышенной межсамцовой агрессией и ее широкой вариабельностью, уровень мРНК окситоцина в ПВЯ гипоталамуса, но не в СОЯ, отрицательно коррелирует со степенью агрессивности этих животных (Calcagnoli et al., 2014). Так, у самцов крыс с максимальным проявлением агрессивности отмечали пониженный уровень мРНК окситоцина в ПВЯ по сравнению с менее агрессивными самцами. Введение окситоцина в желудочек мозга самцам серых крыс вызывало дозозависимое понижение агрессивности, которое было наиболее заметно у самцов с максимальным проявлением агрессивности (Calcagnoli et al., 2013). В исследованиях на человеке также отмечали разную эффективность влияния назального введения окситоцина на просоциальное поведение (или проявление позитивных взаимодействий с другими индивидуумами) в зависимости от исходного уровня социальной мотивации у испытуемого. Интраназальное введение окситоцина способствовало просоциальному поведению, особенно у людей, имеющих низкую исходную социальную мотивацию, но может усугубить межличностную тревогу у людей с низким уровнем социальной безопасности (Bartz et al., 2015; Soriano et al., 2020).

Исследования на серых крысах, селекционируемых на агрессивное и толерантное отношение к человеку, могли бы внести вклад в понимание особенностей функционирования эндогенной окситоцинергической системы и роли окситоцина в регуляции поведенческих реакций. В результате отбора у ручных крыс наблюдаются полное отсутствие оборонительных реакций и высокая толерантность к человеку при взятии в руки, тогда как серые крысы агрессивной линии характеризуются не только высокой агрессией по отношению к человеку, но и устойчивым и крайним проявлением внутривидовой межсамцовой агрессии (Плюснина, Соловьева, 2010; Plyusnina et al., 2011).

Показано, что у ручных крыс понижена функциональная активность гипоталамо-гипофизарно надпочечниковой системы (ГГНС) как в периферических, так и в центральных ее звеньях по сравнению с агрессивными и неселекционируемыми (Plyusnina, Oskina, 1997; Herbeck et al., 2017). В тесте на нейтральной территории агрессивность к оппоненту при взаимодействии самцов крыс, селекционируемых на агрессивное поведение, проявляется слабее, чем в тесте резидент–интродер, когда испытуемым животным приходится защищать собственную территорию (Плюснина, Соловьева, 2010). Назальные аппликации окситоцина как взрослым, так и неполовозрелым агрессивным самцам вызывали антиагрессивный эффект в тесте резидент–интродер, в то время как у ручных крыс

введение окситоцина или не влияло на поведение, или даже усиливало признаки агрессии у взрослых самцов с аппликациями раствора с концентрацией 2 мкг/мкл (Gulevich et al., 2019; Kozhemyakina et al., 2020).

Неизвестно, как влияет отбор крыс по поведению на параметры окситоцинергической системы гипоталамуса и уровень окситоцина в периферической крови, а также будет ли сохраняться эффект аппликаций окситоцина на поведение у крыс в тесте на нейтральной территории, где агрессивность самцов проявляется слабее, чем в тесте резидент–интродер.

Целью данной работы было исследование особенностей функциональной активности эндогенной окситоцинергической системы у самцов ручных и агрессивных крыс, а также влияния назальных аппликаций окситоцина на уровень его в крови и проявления агрессивного поведения в тесте на нейтральной территории у этих животных.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Эксперименты проводили в конвенциональном виварии Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск, Россия) на взрослых самцах серых крыс (*Rattus norvegicus*) 84–93-го поколений селекции на отсутствие и усиление агрессивной реакции на человека (ручных и агрессивных соответственно). Животных содержали в металлических клетках (50 × 33 × 20 см) по четыре самца в условиях искусственного фотопериода 12:12 и свободного доступа к воде и пище. Тесты выполняли с 14:00 до 18:00 местного времени.

Все международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Биоэтического комитета Института цитологии и генетики СО РАН (протокол № 8 от 19.3.2012).

Иммуногистохимическое исследование СОЯ и ПВЯ гипоталамуса у интактных ручных и агрессивных крыс. Исследование проводили на крысах 89-го поколения селекции. Для фиксации мозга крыс использовали метод перфузии через аорту левого желудочка сердца с помощью перистальтического насоса. В течение 5–10 мин производили отмывку фосфатно-солевым буфером (1×ФСБ), а затем 4 % раствором параформальдегида (ПФА) 5–10 мин. Для дегидратации извлеченный мозг помещали в 30 % раствор сахарозы на 3–4 недели на +4 °C. Образцы хранились в среде криопротектора Tissue-Tek® O.C.T™ Compound на –70 °C до изготовления срезов. Фронтальные срезы мозга (30 мкм) изготавливали в криостате Microm HM-505N (Microm, Германия) при –20 °C. Срезы монтировали на предметные стекла Polysine® (Menzel-Gläser, Германия). Препараты хранились при –20 °C до дальнейших исследований.

Окрашивание срезов проводили по стандартной методике с использованием набора реактивов (Rabbit specific HPR/DAB (ABC) Detection IHC kit ab64261, фирмы “Abcam”, Великобритания). Антитела (Anti-Oxytocin-neurophysin 1 antibody ab2078 (Abcam)) разводили 1/10000, срезы инкубировали с антителами в течение 3 суток.

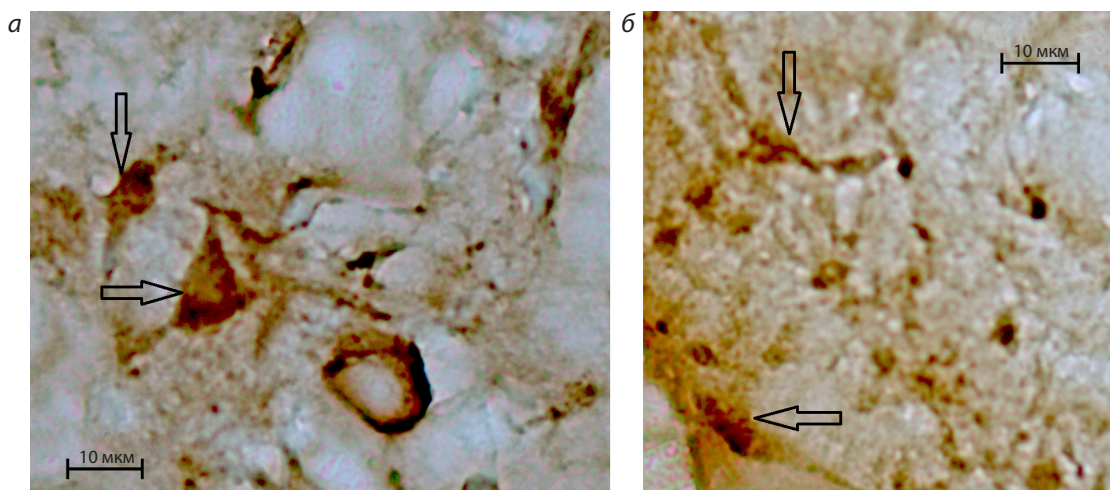


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание содержащих окситоцин клеток паравентрикулярного (а) и супраоптического (б) ядер гипоталамуса крыс.

Объектив: $\times 40$.

Далее с помощью оптического микроскопа AXIO (Zeiss, Германия) на срезах оценивали количество содержащих окситоцин клеток в области СОЯ и ПВЯ гипоталамуса (рис. 1). В ПВЯ гипоталамуса окситоцинергические клетки располагались компактными группами; в связи с этим была выбрана область с максимальной плотностью окрашенных клеток. Эта область составила 4.7 мкм^2 , в ней и определялось количество клеток на всех исследованных срезах. В СОЯ единой области для подсчета клеток выделить не удалось, поэтому определяли количество клеток в расчете на 1 мкм^2 площади среза.

Ноздральные аппликации окситоцина и определение уровня окситоцина в крови после аппликаций. Исследование выполняли на крысах 93-го поколения селекции. Экспериментальные группы составляли 10–12 животных. Для снижения стрессорного влияния процедуры введения окситоцина и физраствора экспериментальных животных до эксперимента в течение 7 дней приучали к рукам. На 8-й день экспериментальной группе крыс проводили однократную аппликацию на область вокруг носа 20 мкл окситоцина с концентрацией 2 мкг/мкл (группа окситоцин) или 20 мкл физраствора (группа физраствор). Через 40 мин после воздействия у животных брали кровь после декаптации для определения изменения содержания окситоцина в плазме периферической крови. Для контроля использовали intactных крыс. Пробы крови брали в пробирки (4 мл, $13 \times 75 \text{ мм}$, VACUETTE с K3 ЭДТА и ингибитором протеолиза апротинином, PREMIUM). Кровь центрифугировали не более чем через 20 мин после взятия, полученную плазму немедленно замораживали при температуре -20°C . Дальнейшее хранение проходило при температуре -70°C .

Содержание окситоцина в плазме крови определяли с помощью набора DetectX® Oxytocin ELISA Kit (Arbor Assays, США) с предварительной экстракцией окситоцина. Для этого к 100 мкл плазмы добавляли 200 мкл 0.05 M Tris HCl pH = 8.0 и 5 мкл DTT (BioChemica, Пакистан), смесь инкубировали 45 мин при 37°C . После чего добавляли 15 мкл 0.5 M йодацетамида с последующей ин-

кубацией в течение 20 мин при комнатной температуре. По окончании вносили 640 мкл 80 % ацетонитрила. После центрифугирования на 14000 g в течение 15 мин супернатант отбирали и высушивали с помощью Concentrator plus (Eppendorf, ФРГ).

Исследование межсамцовых взаимодействий на нейтральной территории. Исследование выполняли на крысах 84-го поколения селекции. Экспериментальные группы составляли 9–10 животных. За две недели до начала эксперимента животные были рассажены в индивидуальные клетки. Всем крысам проводили однократную интраназальную аппликацию на эпителий вокруг ноздрей 20 мкл окситоцина в концентрации 1 мкг/мкл (группа окситоцин) или 20 мкл физраствора (группа физраствор). Через 40 мин после аппликации экспериментального самца помещали в незнакомую клетку ($40 \times 40 \times 60 \text{ см}$), разделенную перегородкой на два равных отсека (Плюснина, Соловьева, 2010). Одновременно с первым самцом во второй отсек помещали самца линии Вистар с примерно равной массой тела, а затем перегородку убирали. Длительность теста составляла 10 мин. Поведение регистрировали на видеокамеру для последующего анализа.

Агонистическое поведение самцов оценивалось по следующим поведенческим показателям: латентному периоду первого агрессивного взаимодействия, числу и времени атак, преследований, ударов задними лапами, вертикальных стоек, опрокидываний на спину, агрессивного груминга, времени боковых поз угрозы (Плюснина, Соловьева, 2010; Soriano et al., 2020). Суммарное время агрессивного поведения включало длительность всех перечисленных выше поз и движений, связанных с конкуренцией или конфликтом животных. Кроме того, оценивалось суммарное время социального неагрессивного поведения, которое включало время приближений и обнюхиваний.

Статистическая обработка результатов. Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 (Statsoft™, США). Нормальность распределения проверяли с применением критерия Кол-

могорова–Смирнова. Для данных по количеству содержащих окситоцин клеток в ядрах гипоталамуса и уровню окситоцина в крови, имеющих нормальное распределение, использовали методы параметрической статистики: критерий Стьюдента и дисперсионный анализ ANOVA для независимых измерений и последующий *post-hoc* анализ с помощью критерия Фишера (Fisher LSD).

Данные по количеству содержащих окситоцин клеток в целых СОЯ и ПВЯ гипоталамуса у ручных и агрессивных крыс анализировали по *t*-критерию Стьюдента, а для результатов по количеству исследуемых клеток в правой и левой части СОЯ и ПВЯ гипоталамуса применяли двухфакторный дисперсионный анализ, где одним из факторов влияния был отбор по поведению, а другим – фактор локализации клеток в правой или левой части СОЯ и ПВЯ гипоталамуса (или латерализации), свидетельствующий о влиянии локализации клеток в правой или левой части ядер на их количество.

Для результатов по уровню окситоцина в крови использовали двухфакторный дисперсионный анализ, где одним из факторов был отбор по поведению, а другим – влияние аппликаций окситоцина или физраствора. Проверка данных по поведенческим показателям не подтвердила нормальность распределения, поэтому при дальнейшей обработке применяли метод непараметрической статистики – U-тест Манна–Уитни. Данные по поведенческим параметрам представлены в виде box-plot с максимальными, минимальными и медианными значениями параметров, где в пределах границ бокса располагается 50 % полученных результатов для данной выборки, от минимальных значений до нижней границы бокса – 25 % результатов, как и от максимальных значений до верхней границы бокса.

Результаты

Иммуногистохимическое исследование

Полученные данные свидетельствуют, что количество содержащих окситоцин клеток в целом ПВЯ гипоталамуса достоверно не отличается у ручных и агрессивных крыс (774.76 ± 38.98 и 826.16 ± 35.80 соответственно), тогда как в целом СОЯ этот показатель у ручных крыс 434.10 ± 28.76 на уровне тенденции был больше, чем у агрессивных 331.68 ± 37.16 ($p < 0.06$).

Анализ данных по количеству содержащих окситоцин клеток в отдельных половинах СОЯ и ПВЯ гипоталамуса проводили с помощью двухфакторного дисперсионного анализа, где одним из факторов был отбор по поведению, а другим – фактор локализации в правой или левой части СОЯ и ПВЯ гипоталамуса (или фактор латерализации).

Показано, что отбор по поведению не влиял на количество содержащих окситоцин клеток в отдельных половинах ПВЯ гипоталамуса, тогда как влияние фактора латерализации было достоверно ($F_{1,65} = 8.08$, $p < 0.01$), но не было взаимодействия этих факторов. Последующий *post-hoc* анализ показал, что только у ручных крыс количество содержащих окситоцин клеток в левой половине ПВЯ больше, чем в его правой половине ($p < 0.05$) (рис. 2).

В отличие от ПВЯ, фактор отбора по поведению достоверно влиял на относительное количество содержащих

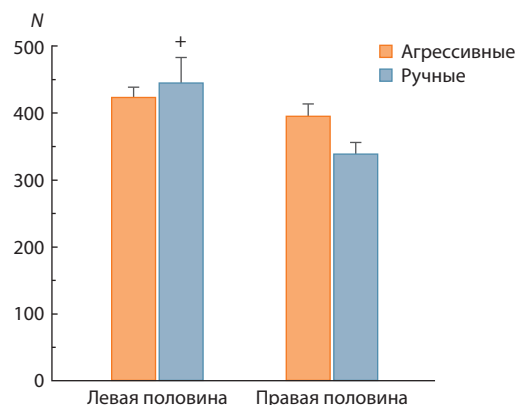


Рис. 2. Количество содержащих окситоцин клеток в левой и правой половинах ПВЯ гипоталамуса у серых крыс.

⁺ $p < 0.05$ по сравнению с правой ПВЯ; двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим *post-hoc* тестом Фишера. N – число клеток.

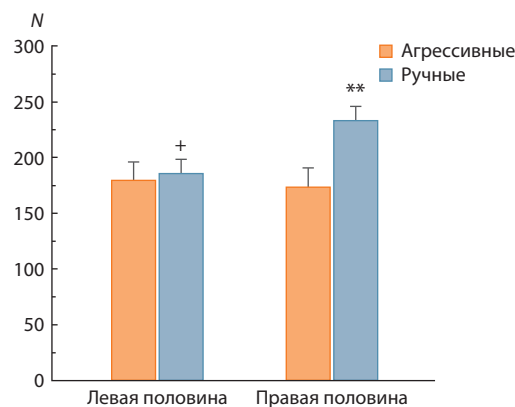


Рис. 3. Количество содержащих окситоцин клеток в левой и правой половинах СОЯ гипоталамуса у серых крыс.

^{**} $p < 0.01$ по сравнению с агрессивными крысами; ⁺ $p < 0.05$ по сравнению с правой половиной СОЯ; двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим *post-hoc* тестом Фишера. N – число клеток.

окситоцин клеток в отдельных половинах СОЯ ($F_{1,56} = 4.2$, $p < 0.05$), но не фактор латерализации. Взаимодействие этих факторов было недостоверно. Последующий *post-hoc* анализ свидетельствовал, что в правой половине СОЯ количество содержащих окситоцин клеток у ручных крыс достоверно больше, чем у агрессивных ($p < 0.01$) (рис. 3), что согласуется с описанной выше тенденцией к большому количеству этих клеток в целом СОЯ у ручных крыс, чем у агрессивных. Кроме того, только у ручных крыс относительное количество содержащих окситоцин клеток в правой половине СОЯ достоверно больше, чем в левой половине СОЯ ($p < 0.05$).

Определение уровня окситоцина в крови после назальных аппликаций

Двухфакторный дисперсионный анализ показал достоверное влияние отбора по поведению на уровень окситоцина в плазме крови у крыс ($F_{2,55} = 23.65$, $p < 0.001$) и отсутствие как влияния фактора введения окситоцина, так и взаи-

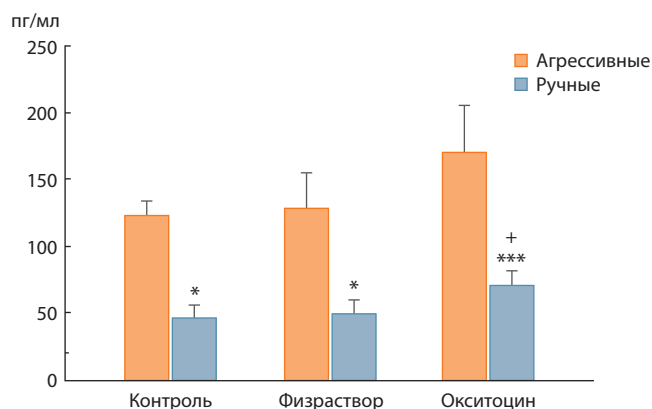


Рис. 4. Содержание окситоцина в плазме крови крыс спустя 40 мин после аппликации нейрогормона (20 мкл с концентрацией 2 мкг/мкл) или 20 мкл физраствора, пг/мл.

* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ по сравнению с агрессивными; * $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой, согласно двухфакторному дисперсионному анализу ANOVA и *post-hoc* тесту Фишера.

модействия факторов. Согласно последующему *post-hoc* анализу, уровень окситоцина в плазме крови у ручных животных был достоверно ниже, чем у агрессивных, во всех исследованных группах ($p < 0.05$ – для контрольной группы и группы с введением физраствора, $p < 0.001$ для группы с введением окситоцина) (рис. 4). Аппликации физраствора не влияли на уровень окситоцина в крови у ручных и агрессивных крыс. У ручных крыс, получавших окситоцин, уровень нейропептида в крови был выше, по сравнению с интактным контролем ($p < 0.05$).

Влияние назальных аппликаций окситоцина на поведение крыс в тесте на межсамцовые взаимодействия на нейтральной территории

На рис. 5 представлены данные по паттернам поведения в тесте на межсамцовые взаимодействия на нейтральной территории, в которых наблюдались достоверные различия. Наши исследования показали, что в контрольной группе с введением физраствора у агрессивных крыс общее время агрессивных взаимодействий, число и время боковых поз угроз достоверно больше, чем у ручных ($p < 0.03$, $U = 17.5$, $Z = 2.2$; $p < 0.035$, $U = 18$, $Z = 2.16$; $p < 0.04$, $U = 19$, $Z = 2.08$ соответственно). Тогда как латентный период до агрессивного взаимодействия у агрессивных животных достоверно меньше, чем у ручных после аппликаций физраствора ($p < 0.02$, $U = 16$, $Z = -2.33$).

После аппликации окситоцина у агрессивных крыс достоверно уменьшаются общее время агрессивных взаимодействий, число и время боковых стоек угроз по сравнению с крысами того же поведения после физраствора ($p < 0.04$, $U = 19$, $Z = 2.08$; $p < 0.035$, $U = 18$, $Z = 2.16$; $p < 0.025$, $U = 17$, $Z = 2.24$ соответственно). У ручных крыс после воздействия окситоцина достоверно возрастают число ударов задними лапами и их продолжительность по сравнению с группой, получающей физраствор ($p < 0.02$, $U = 16$, $Z = -2.33$ для обоих параметров). Наряду с этим у ручных крыс после аппликаций окситоцина отмечаются тенденции к более продолжительным агрессивным взаимодействиям и боковым позам угроз, а также к большему количеству последних, по сравнению животными, получающими физраствор.

Сравнение поведения агрессивных и ручных крыс после аппликаций окситоцина показывает, что у агрессивных

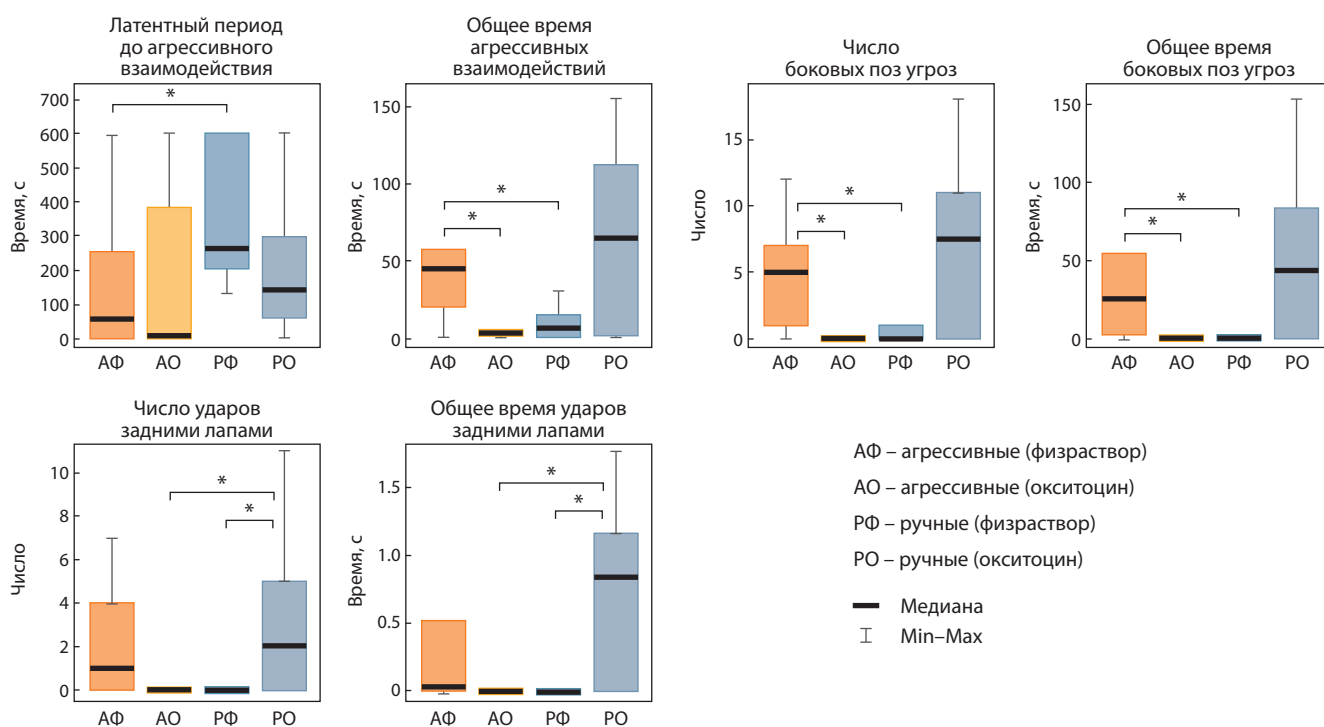


Рис. 5. Влияние назальных аппликаций окситоцина (20 мкл с концентрацией 1 мкг) на паттерны поведения в тесте на межсамцовые взаимодействия на нейтральной территории.

* $p < 0.05$, согласно U-тесту Манна-Уитни.

крыс число и продолжительность ударов задними лапами становятся значительно меньше, чем у ручных ($p < 0.02$, $U = 16$, $Z = -2.33$ для обоих параметров). Введение окситоцина нивелирует различия у ручных и агрессивных крыс по общему времени агрессивных взаимодействий, количеству и времени боковых стоек угроз, которые отмечались после введения физраствора.

Обсуждение

По данным иммуногистохимического исследования ядер гипоталамуса, у ручных крыс отмечается асимметрия по количеству содержащих окситоцин клеток в СОЯ и ПВЯ, тогда как у агрессивных крыс такой асимметрии не наблюдается. Данные по функциональной асимметрии гипоталамуса у кроликов, полученные методом сопряженной импulsации нейронов с целью вызова мотивационных и эмоциональных реакций, показали, что наиболее эффективным для вызова оборонительной мотивации был левый гипоталамус, а для эмоционально-положительных реакций – правый гипоталамус (Павлова, 2001).

Из наших данных следует, что количество содержащих окситоцин клеток в правом СОЯ у крыс, селекционируемых на ручное поведение, достоверно больше, чем у агрессивных (см. рис. 2). Поскольку в результате отбора по поведению ручные и агрессивные крысы заметно различаются по оборонительной реакции на человека, можно предполагать, что наблюдаемая нами асимметрия по количеству содержащих окситоцин клеток в СОЯ и ПВЯ гипоталамуса у ручных крыс, а также большее количество исследуемых клеток в правой части СОЯ у ручных животных, по сравнению с агрессивными, вносят вклад в особенности их реакций на человека.

Данные о большем количестве содержащих окситоцин клеток в правом СОЯ гипоталамуса у ручных крыс, по сравнению с агрессивными, согласуются с наблюдаемой тенденцией большего количества этих клеток в целом СОЯ ($p = 0.07$). Иными словами, можно предполагать, что количество содержащих окситоцин клеток отрицательно коррелирует с агрессивностью крыс, что в целом согласуется с ослаблением агрессивности у агрессивных крыс после введения окситоцина в желудочек мозга или с помощью назальных аппликаций (Calcagnoli et al., 2013, 2015; Gulevich et al., 2019).

Результаты, полученные на самцах крыс Groningen, свидетельствуют об отрицательной корреляции уровня мРНК окситоцина в ПВЯ и степени агрессивности самцов (Calcagnoli et al., 2014). Судя по данным этих авторов и полученным нами, функциональные параметры эндогенной окситоцинергической системы в гипоталамусе у более агрессивных крыс ниже, чем у менее агрессивных (в случае крыс Groningen) или ручных (в случае нашей селекционной модели). Вместе с тем, если в данном исследовании агрессивные самцы крыс отличались от ручных по количеству содержащих окситоцин клеток в правом СОЯ гипоталамуса, то крысы Groningen с разной степенью агрессивности отличались по уровню мРНК окситоцина в ПВЯ гипоталамуса (Calcagnoli et al., 2014). Такие особенности в локализации различий между крысами, исследуемыми нами, и крысами Groningen с разной степенью агрессивности могут быть связаны с разными подходами к формированию агрессивного поведения и его оценкой. Так,

агрессивность у крыс Groningen определяли по времени нападений на оппонента в процентах от всего времени эксперимента в 10 тестах резидент–интродер, а агрессивное поведение крыс, исследуемых в данной работе, было сформировано в результате длительного отбора по реакции на человека.

Показано, что у агрессивных крыс уровень окситоцина в крови достоверно выше, чем у ручных. Поскольку выделение окситоцина в кровь не всегда коррелирует с локальным выделением окситоцина из аксональных терминалей в различных областях головного мозга (Knobloch et al., 2012; Grinevich et al., 2015), оценка активности окситоциновой системы мозга по уровню гормона в крови не всегда однозначна, и изменение уровня окситоцина в плазме не обязательно соотносится с поведением животных (Neumann, 2008). Спустя 40 мин после назальных аппликаций окситоцина только у ручных крыс уровень этого нейропептида в крови был выше, чем у интактных животных, но не у крыс с аппликациями физраствора (см. рис. 4), хотя этот параметр достоверно не отличался у интактных и получающих физраствор крыс. Тогда как у крыс Вистар после аппликаций окситоцина уровень его в крови повышался спустя 70, 100 и 130 мин (Neumann et al., 2013). По-видимому, после аппликаций окситоцина для регистрации повышения уровня его в крови необходим более продолжительный промежуток времени, чем в данном исследовании, и для регистрации эффектов на поведение, наблюдаемых уже через 40 мин как на нейтральной территории, так и в тесте резидент–интродер (Gulevich et al., 2019; Kozhemyakina et al., 2020).

Представленные данные по поведению у агрессивных крыс в тесте межсамцовых взаимодействий на нейтральной территории свидетельствуют об антиагрессивном эффекте окситоцина, поскольку после однократной аппликации окситоцина (20 мкл с концентрацией 1 мкг/мкл) у этих животных становятся достоверно менее продолжительными агрессивные взаимодействия и боковые стойки угроз, а также уменьшается количество боковых стоек угроз по сравнению с животными того же поведения, получающими физраствор. Такой же эффект аппликаций окситоцина отмечали в тесте резидент–интродер у самцов крыс Groningen (Calcagnoli et al., 2015) и у крыс, селекционируемых на агрессивное поведение, в условиях взаимодействия как с самцом-оппонентом, так и с экспериментатором (в тесте «на перчатку») (Gulevich et al., 2019; Kozhemyakina et al., 2020). Причем у агрессивных крыс агрессивность понижалась как при однократных аппликациях раствора окситоцина с концентрацией 2 мкг/мкл, так и в случае 5-дневных аппликаций раствора с меньшей концентрацией, 1 мкг/мкл, т. е. с варьирующимися концентрациями раствора в определенном диапазоне. Поскольку ранее было показано, что у агрессивных крыс на нейтральной территории агрессивность к оппоненту проявляется слабее, чем при защите своей собственной территории в условиях теста резидент–интродер (Плюснина, Соловьева, 2010), можно полагать, что окситоцин вызывает понижение агрессивности у этих животных независимо от степени ее проявления в различных тестах.

Судя по поведению у ручных крыс в тесте на нейтральной территории, аппликации окситоцина (20 мкл с концентрацией 1 мкг/мкл), напротив, вызывали у них досто-

верное увеличение количества и продолжительности ударов задними лапами, а также на уровне тенденции более продолжительные агрессивные взаимодействия, боковые позы угроз и повышение количества последних по сравнению животными, получающими физраствор (см. рис. 5). Изменение этих отдельных поведенческих параметров позволяет судить в целом об усилении агрессивного поведения у ручных крыс. Из ранее полученных данных в тесте резидент–интродер после 5-дневных аппликаций окситоцина с такой же дозой, как и в данной работе (20 мкл с концентрацией 1 мкг/мкл), у ручных крыс увеличивается не только количество ударов задними лапами, но и продолжительность агрессивных взаимодействий, боковых стоек угроз, а также количество атак, тогда как однократные аппликации окситоцина с большей концентрацией 2 мкг/мкл не оказывали достоверного влияния на поведение ручных крыс в тесте резидент–интродер (Gulevich et al., 2019).

Для понимания феномена обратного эффекта увеличения дозы окситоцина требуются дальнейшие исследования. Усиление отдельных параметров агрессивного поведения у ручных самцов крыс под влиянием экзогенного окситоцина по сравнению с контролем при стрессирующих условиях взаимодействия с оппонентом на незнакомой нейтральной территории не противоречит данным других исследователей. К примеру, исследования на domesticiрованных животных (собаки, коровы и свиньи) и человеку также свидетельствуют, что окситоцин в условиях стресса может способствовать парадоксальному ответу на нейтральное или даже аффилиативное (или позитивное) взаимодействие, усиливая агрессию и стресс-ответ (Rault et al., 2013; Hernádi et al., 2015; Yayou et al., 2015; Crespi, 2016; Shamay-Tsoory, Abu-Akel, 2016).

Методом автордиографии у самцов крыс Groningen с максимальным проявлением агрессивности показано, что экспрессия рецепторов окситоцина в центральной миндалине и ядре ложа терминальной полоски была выше, чем у менее агрессивных крыс, что, по мнению F. Calcagnoli с коллегами (2014), может частично компенсировать пониженную секрецию окситоцина в ПВЯ гипоталамуса у первых, а также повышать их чувствительность к введению эндогенного окситоцина. Причем экспрессия рецепторов окситоцина в обоих регионах коррелировала с продолжительностью наступательной агрессии в 10-минутном тесте резидент–интродер. В связи с этим можно ожидать, что у крыс, селекционируемых на агрессивное поведение, экспрессия рецепторов окситоцина в центральной миндалине и ядре ложа терминальной полоски также выше, чем у ручных крыс. Для определения уровня экспрессии рецепторов окситоцина в этих отделах мозга у крыс, селекционируемых по поведению, необходимы дальнейшие исследования.

Как уже отмечалось выше, у человека максимально выраженные просоциальные эффекты назального введения окситоцина наблюдали у лиц с низкой социальной мотивацией или избегающих социального общения (Bartz et al., 2015; Soriano et al., 2020). Поскольку в наших исследованиях антиагрессивный эффект окситоцина отмечается только у агрессивных крыс, поведение которых отличается не только высокой агрессией по отношению к человеку, но и устойчивым и крайним проявлением внутривидовой

межсамцовой агрессии, по-видимому, этих крыс можно рассматривать в качестве модельных для исследования механизмов, а также подходов к лечению спектра таких нейropsychиатрических заболеваний, как аутизм, социальная тревожность и депрессия.

Исследования, проведенные на крысах и полевках, свидетельствуют о функциональной взаимосвязи окситоциновой системы и ГГНС (Neumann et al., 2000; Engelmann et al., 2004; Smith, Wang, 2014). При повышении активности эндогенной окситоциновой системы в случае лактации или после социальных взаимодействий отмечают ослабление секреции адренокортикотропного гормона и кортикостерона в покое и после стрессирующих воздействий, как, например, присутствия оппонента конспецифика (Neumann et al., 2000; Engelmann et al., 2004; Smith, Wang, 2014). Ингибирующее действие окситоцина на ГГНС при стрессе может осуществляться путем торможения транскрипции гена кортикотропин-рилизинг гормона *Crh* в гипоталамусе (Jurek et al., 2015). Можно предполагать, что повышенное количество содержащих окситоцин клеток в правой половине СОЯ у ручных крыс, по сравнению с агрессивными, связано с пониженной экспрессией гена *Crh* в гипоталамусе, о чем сообщалось нами ранее как для интактных, так и для животных после аппликаций окситоцина (Herbeck et al., 2017; Gulevich et al., 2019).

Заключение

Таким образом, ослабление или, наоборот, усиление агрессивного поведения под влиянием экзогенного окситоцина у крыс, селекционируемых по поведению, обусловлено различиями в активности эндогенной окситоциновой системы и, возможно, ее функциональной взаимосвязи с ГГНС, которая играет важную роль в регуляции поведения и существенно изменяется под влиянием отбора по поведению.

Список литературы / References

- Павлова И.В. Функциональная асимметрия мозга при мотивационных и эмоциональных состояниях: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2001
[Pavlova I.V. Functional brain asymmetry in motivational and emotional conditions: Doctor Sci (Biol.) Dissertation. Moscow, 2001 (in Russian)]
- Плюснина И.З., Соловьева М.Ю. Внутривидовая межсамцовая агрессия у ручных и агрессивных серых крыс. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2010;60(2):175-183
[Plyusnina I., Solov'eva M. Intraspecific intermale aggression in tame and aggressive Norway rats. *Zhurnal Vysshei Nervnoi Deyatel'nosti imeni I.P. Pavlova*. 2010;60(2):175-183 (in Russian)]
- Симонов П.В. Мотивированный мозг. М.: Наука, 1987
[Simonov P.V. The Motivated Brain. Moscow: Nauka Publ., 1987 (in Russian)]
- Симонов П.В. О нервных центрах эмоций. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 1993;43(3):514-529
[Simonov P.V. The nerve centers of the emotions. *Zhurnal Vysshei Nervnoi Deyatel'nosti imeni I.P. Pavlova*. 1993;43(3):514-529 (in Russian)]
- Судаков К.В. Нейрофизиологические основы доминирующих мотиваций. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 1993; 7:42-48
[Sudakov K.V. The neurophysiological grounds of dominating motivation. *Vestnik Rossiiskoy Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 1993;7:42-48 (in Russian)]

- Aydogan G., Jobst A., Loy F., Dehning S., Zill P., Müller N., Kocher M. The effect of oxytocin on group formation and strategic thinking in men. *Horm Behav.* 2018;100:100-106. doi 10.1016/j.yhbeh.2018.02.003
- Bartz J.A., Lydon J.E., Kolevzon A., Zaki J., Hollander E., Ludwig N., Bolger N. Differential effects of oxytocin on agency and communion for anxiously and avoidantly attached individuals. *Psychol Sci.* 2015;26(8):1177-1186. doi 10.1177/0956797615580279
- Calcagnoli F., de Boer S.F., Althaus M., de Boer J.A., Koolhaas J.M. Antiaggressive activity of central oxytocin in male rats. *Psychopharmacology.* 2013;229(4):639-651. doi 10.1007/s00213-013-3124-7
- Calcagnoli F., de Boer S.F., Beiderbec D.I., Althaus M., Koolhaas J.M., Neumann I.D. Local oxytocin expression and oxytocin receptor binding in the male rat brain is associated with aggressiveness. *Behav Brain Res.* 2014;261:315-322. doi 10.1016/j.bbr.2013.12.050
- Calcagnoli F., Kreutzmann J.C., de Boer S.F., Althaus M., Koolhaas J.M. Acute and repeated intranasal oxytocin administration exerts anti-aggressive and pro-affiliative effects in male rats. *Psychoneuroendocrinology.* 2015;51:112-121. doi 10.1016/j.psyneuen.2014.09.019
- Castel M., Gainer H., Dellmann H.D. Neuronal secretory systems. *Int Rev Cytol.* 1984;88:303-459. doi 10.1016/s0074-7696(08)62760-6
- Crespi B.J. Oxytocin, testosterone, and human social cognition. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2016;91(2):390-408. doi 10.1111/brv.12175
- de Jong T.R., Neumann I.D. Oxytocin and aggression. *Curr Top Behav Neurosci.* 2018;35:175-192. doi 10.1007/7854_2017_13
- Eliava M., Melchior M., Knobloch-Bollmann H.S., Wahis J., da Silva Gouveia M., Tang Y., Ciobanu A.C., ... Poisbeau P., Seeburg P.H., Stoop R., Charlet A., Grinevich V. A new population of parvocellular oxytocin neurons controlling magnocellular neuron activity and inflammatory pain processing. *Neuron.* 2016;89(6):1291-1304. doi 10.1016/j.neuron.2016.01.041
- Engelmann M., Landgraf R., Wotjak C.T. The hypothalamic-neurohypophyseal system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: an old concept revisited. *Front Neuroendocrinol.* 2004;25:132-149. doi 10.1016/j.yfrne.2004.09.001
- Grinevich V., Neumann I. Brain oxytocin: how puzzle stones from animal studies translate into psychiatry. *Mol Psychiatry.* 2021;26(1):265-279. doi 10.1038/s41380-020-0802-9
- Grinevich V., Desarménien M., Chini B., Tauber M., Muscatelli F. Ontogenesis of oxytocin pathways in the mammalian brain: late maturation and psychosocial disorders. *Front Neuroanat.* 2015;8:164. doi 10.3389/fnana.2014.00164
- Gulevich R., Kozhemyakina R., Shikhevich S., Konoshenko M., Herbeck Yu. Aggressive behavior and stress response after oxytocin administration in male Norway rats selected for different attitudes to humans. *Physiol Behav.* 2019;199:201-218. doi 10.1016/j.physbeh.2018.11.030
- Herbeck Y.E., Gulevich R.G. Neuropeptides as facilitators of domestication. *Cell Tissue Res.* 2019;375(1):295-307. doi 10.1007/s00441-018-2939-2
- Herbeck Y.E., Amelkina O.A., Konoshenko M.Yu., Shikhevich S.G., Gulevich R.G., Kozhemyakina R.V., Plyusnina I.Z., Oskina I.N. Effects of neonatal handling on behavior and stress response in rats selected for their reaction towards humans. *Russ J Genet Appl Res.* 2017;7(1):71-81. doi 10.1134/S2079059717010051
- Hernádi A., Kis A., Kanizsár O., Tóth K., Miklósi B., Topál J. Intranasally administered oxytocin affects how dogs (*Canis familiaris*) react to the threatening approach of their owner and an unfamiliar experimenter. *Behav Processes.* 2015;119:1-5. doi 10.1016/j.beproc.2015.07.001
- Jurek B., Neumann I. The oxytocin receptor: from intracellular signaling to behavior. *Physiol Rev.* 2018;98(3):1805-1908. doi 10.1152/Physrev.00031.2017
- Jurek B., Slattery D.A., Hiraoka Y., Liu Y., Nishimori K., Aguilera G., Neumann I.D., van den Burg E.H. Oxytocin regulates stress-induced *Crf* gene transcription through CREB-regulated transcription co-activator 3. *J Neurosci.* 2015;35(35):12248-12260. doi 10.1523/JNEUROSCI.1345-14.2015
- Kiss D.S., Toth I., Jocsak G., Barany Z., Barthá T., Frenyo L.V., Horvath T.L., Zsarnovszky A. Functional aspects of hypothalamic asymmetry. *Brain Sci.* 2020;10(6):389. doi 10.3390/brainsci10060389
- Knobloch S., Charlet A., Hoffmann L.C., Eliava M., Khrulev S., Cetin A.H., Osten P., Schwarz M.K., Seeburg P.H., Stoop R., Grinevich V. Evoked axonal oxytocin release in the central amygdala attenuates fear response. *Neuron.* 2012;73(3):553-566. doi 10.1016/j.neuron.2011.11.030
- Kozhemyakina R.V., Shikhevich S.G., Konoshenko M.Yu., Gulevich R.G. Adolescent oxytocin treatment affects resident behavior in aggressive but not tame adult rats. *Physiol Behav.* 2020;224:113046. doi 10.1016/j.physbeh.2020.113046
- Marsh N., Marsh A.A., Lee M.R., Hurlmann R. Oxytocin and the neurobiology of prosocial behavior. *Neuroscientist.* 2021;27(6):604-619. doi 10.1177/1073858420960111
- Neumann I. Brain oxytocin: a key regulator of emotional and social behaviours in both females and males. *J Neuroendocrinol.* 2008;20(6):858-865. doi 10.1111/j.1365-2826.2008.01726.x
- Neumann I.D., Slattery D.A. Oxytocin in general anxiety and social fear: a translational approach. *Biol Psychiatry.* 2016;79(3):213-221. doi 10.1016/j.biopsych.2015.06.004
- Neumann I., Wigger A., Torner L., Holsboer F., Landgraf R. Brain oxytocin inhibits basal and stress-induced activity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in male and female rats: partial action within the paraventricular nucleus. *J Neuroendocrinol.* 2000;12(3):235-243. doi 10.1046/j.1365-2826.2000.00442.x
- Neumann I., Maloumy R., Beiderbeck D.I., Lukas M., Landgraf R. Increased brain and plasma oxytocin after nasal and peripheral administration in rats and mice. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(10):1985-1993. doi 10.1016/j.psyneuen.2013.03.003
- Plyusnina I., Oskina I. Behavioral and adrenocortical responses to open-field test in rats selected for reduced aggressiveness toward humans. *Physiol Behav.* 1997;61(3):381-385. doi 10.1016/s0031-9384(96)00445-3
- Plyusnina I.Z., Solov'eva M.Y., Oskina I.N. Effect of domestication on aggression in gray Norway rats. *Behav Genet.* 2011;41(4):583-592. doi 10.1007/s10519-010-9429-y
- Rault J.-L., Carter C.S., Garner J.P., Marchant J.N., Richert B.T., Lay D.C. Jr. Repeated intranasal oxytocin administration in early life dysregulates the HPA axis and alters social behavior. *Physiol Behav.* 2013;112-113:40-48. doi 10.1016/j.physbeh.2013.02.007
- Shamay-Tsoory S.G., Abu-Akel A. The social salience hypothesis of oxytocin. *Biol Psychiatry.* 2016;79(3):194-202. doi 10.1016/j.biopsych.2015.07.020
- Smith A.S., Wang Z. Hypothalamic oxytocin mediates social buffering of the stress response. *Biol Psychiatry.* 2014;76(4):281-288. doi 10.1016/j.biopsych.2013.09.017
- Soriano J.R., Daniels N., Prinsen J., Alaerts K. Intranasal oxytocin enhances approach-related EEG frontal alpha asymmetry during engagement of direct eye contact. *Brain Commun.* 2020;2(2):fcaa093. doi 10.1093/braincomms/fcaa093
- Takayanagi Y., Onaka T. Roles of oxytocin in stress responses, allostasis and resilience. *Int J Mol Sci.* 2021;23(1):150. doi 10.3390/ijms23010150
- Tang Y., Benusiglio D., Lefevre A., Hilfiger L., Althammer F., Bludau A., Hagiwara D., ... Stern J.E., Leng G., Neumann I.D., Charlet A., Grinevich V. Social touch promotes interfemale communication via activation of parvocellular oxytocin neurons. *Nat Neurosci.* 2020;23(9):1125-1137. doi 10.1038/s41593-020-0674-y
- Yayou K., Ito S., Yamamoto N. Relationships between postnatal plasma oxytocin concentrations and social behaviors in cattle. *Anim Sci J.* 2015;86(8):806-813. doi 10.1111/asj.12363
- Yoon S., Kim Yu. The role of the oxytocin system in anxiety disorders. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1191:103-120. doi 10.1007/978-981-32-9705-0_7