Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук

На правах рукописи

Семёнова Алина Асатовна

ВЛИЯНИЕ ГЛИАЛЬНОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА (GDNF) НА ПОВЕДЕНИЕ И СЕРОТОНИНОВУЮ СИСТЕМУ МОЗГА МЫШЕЙ С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К ПАТОЛОГИЧЕСКОМУ ПОВЕДЕНИЮ

03.03.01-физиология

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
Н.К. Попова

Новосибирск
2016

Список используемых сокращений 3

Введение 4

Глава 1. Обзор литературы. Глиальный нейротрофический фактор. Функции. Влияние на поведение. Взаимодействие с 5-HT системой мозга. 8

1.1. Нейротрофические факторы 8

1.2. Функции GDNF 12

1.3. Влияние GDNF на поведение 16

1.4. Взаимодействие между GDNF и серотониновой системой мозга 22

Глава 2. Материалы и методы 26

2.1. Экспериментальные животные 26

2.2. Препараты 27

2.3. Поведенческие тесты 28

2.3. Определение функциональной активности 5-HT рецепторов 31

2.4. Определение экспрессии генов 32

2.5. Статистическая обработка 36

Глава 3. Результаты исследования 37

3.1. Поведенческие ответы на центральное введение GDNF. 37

3.1.1. Влияние GDNF на поведение мышей линии CBA. 37

3.1.2. Влияние GDNF на поведение мышей линии ASC 42

3.1.3. Сравнение эффекта GDNF на поведение мышей линий CBA и ASC. 48

3.2. Функциональная активность 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов в мозге мышей в результате введения GDNF. 50

3.3. Влияние GDNF на экспрессию ключевых генов серотониновой системы в мозге мышей CBA и ASC. 51

3.3.1. Сравнение эффектов GDNF на экспрессию генов серотониновой системы в мозге мышей CBA и ASC. 55

Глава 4. Обсуждение результатов 56

Заключение 64

Выводы 65

Список цитируемой литературы 66

Приложение 93

Список используемых сокращений

5-HT (5-hydroxytryptamine) – 5-гидрокситриптамин/ серотонин

5-HT_{1-7} – рецепторы серотонина

5-HTT – транспортер серотонина

5-ГИУК – 5-гидроксииндолуксусная кислота

8-OH-DPAT – 8-гидрокси-N,N-дипропил-2-аминотетралин

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

Г-3-ФД – глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

ОКР – обсесивно-компульсивные расстройства

ОТ-ПЦР – обратная транскрипция - полимеразная цепная реакция

СИОЗС – селективный ингибитор обратного захвата серотонина

ТПГ-2; *Tph-2* – триптофангидроксилаза 2; ген, кодирующий фермент ТПГ-2

ЦНС – центральная нервная система

ASC – линия мышей (Antidepressant Sensitive Catalepsy)

BDNF – brain-derived neurotrophic factor –нейротрофический фактор мозга

DOI – 1-(2,5-диметокси-4-йодофенил)-2-аминопропан

GDNF – glial cell line-derived neurotrophic factor – глиальный нейротрофический фактор

RET – рецепторная тирозиновая киназа

Введение

Актуальность проблемы.

Сложность и многогранность реализации нормального и патологического поведения определяется не только множественными связями между клетками мозга, но и тем, что регуляция их деятельности обладает большим числом степеней свободы. Гомеостаз на уровне нейромедиаторов, нейропептидов, гормонов и нейротрофических факторов может иметь критическое значение для существования психически полноценного организма. Нейротрофические факторы играют важную роль в структурной целостности нервной системы, и потому могут быть хорошими кандидатами в качестве терапевтических агентов для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Глиальный нейротрофический фактор (GDNF), являясь отдаленным родственником семейства трансформирующего фактора роста-β (TGF-β), широко распространен в мозге и играет важную роль в развитии, дифференциации и выживании различных нейронных популяций (Lin et al., 1993; Airaksinen, Saarma, 2002). GDNF и его влияние на поведение в основном изучено в контексте патологий, связанных с дофаминовой системой мозга (Tomac et al., 1995b; Kearns et al., 1997; Gill et al., 2003; Slevin et al., 2007). В то же время, связь GDNF с другим медиатором мозга, участвующим в регуляции практически всех физиологических и поведенческих функций, серотонином (5-HT), пока нельзя описать четкой схемой.

In vitro было показано стимулирующее влияние 5-HT на экспрессию и синтез GDNF (Hisaoka et al., 2004). Существуют данные, что у пациентов с депрессивными расстройствами уровень GDNF снижен в крови (Takebayashi et al., 2006; Otsuki et al., 2008; Diniz et al., 2011; Pallavi et al., 2013), а антидепрессанты, в том числе и селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС), повышают уровень GDNF в сыворотке крови (Zhang et al., 2008; 2010). Кроме того, антидепрессант из группы СИОЗС флуоксетин значительно увеличивал уровень GDNF в мозге мышей с моделируемой множественной системной атрофией (Ubhi et al., 2012). Таким образом, рассматривается участие GDNF в патогенезе депрессивных заболеваний.

Другим распространенным психиатрическим синдромом, в развитии которого участвует 5-HT система мозга, являются обсессивно-компульсивные расстройства или навязчивые состояния (Вальтер, 2010). Данные о регулирующей роли GDNF в патогенезе навязчивых состояний малочисленны и противоречивы (Fontenelle et al., 2012; Tunca et al., 2015).

Каталепсия в природе – это защитно-оборонительная реакция, характеризующаяся замиранием животного при виде опасности. В гипертрофированном виде каталепсия рассматривается как патологическое состояние и синдром нарушения функционирования мозга (Singerman, Raheja, 1994). В Институте цитологии и генетики СО РАН изучаются линии мышей с различной предрасположенностью к каталепсии. Линия мышей ASC (Antidepressants Sensitive Catalepsy) была получена путем селекции на предрасположенность к каталептическому замиранию из популяции бэккросов между мышами некаталептической линии AKR и каталептической линии CBA (Базовкина и др., 2005). 70-80 % мышей ASC проявляют стойкую реакцию каталепсии. Селекция на высокую предрасположенность к каталепсии привела к формированию депрессивноподобных характеристик поведения и этим линия ASC отличается от родительской линии CBA (Базовкина и др., 2005; Тихонова и др., 2010). У мышей каталептических линий ASC и CBA увеличена функциональная активность 5-HT_{1A} рецепторов (Науменко и др., 2006), снижена функциональная активность 5-HT_{2A} рецепторов и снижен уровень мРНК 5-HT_{2A} рецепторов во фронтальной коре по сравнению с некаталептической линией AKR (Naumenko et al., 2010). Таким образом, у мышей с генетической предрасположенностью к каталепсии наблюдаются серьезные изменения в 5-HT системе мозга. Роль GDNF в регуляции данного типа патологического поведения – генетически детерминированной щипковой каталепсии совершенно не освещена в литературе.

Исследование взаимовлияния 5-HT и GDNF может внести ясность в механизмы реализации патологического поведения и этиологию психических заболеваний, связанных с дисфункцией 5-HT системы мозга.

Целью данной работы было исследование влияния однократного центрального введения GDNF на поведение и экспрессию ключевых генов

серотониновой системы в мозге у мышей каталептической линии ASC, которая также характеризуется депрессивноподобным поведением, и каталептической «недепрессивной» линии мышей CBA.

Были поставлены следующие **задачи:**

1. Изучить влияние GDNF на двигательную активность, тревожность, пространственное обучение и патологические формы поведения – каталепсию, депрессивноподобное и стереотипное обсессивно-компульсивное поведение.

2. Определить влияние GDNF на экспрессию генов, кодирующих серотониновый транспортер (5-HTT), ключевой фермент синтеза серотонина в мозге триптофангидроксилазу-2 (ТПГ-2), а также 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторы и их функциональную активность.

Научная новизна:

1. Впервые было показано длительное снижение проявлений каталептического замирания мышей, генетически предрасположенных к каталепсии, в результате однократного центрального введения GDNF.
2. Установлено, что GDNF улучшает показатели обучения в водном лабиринте Морриса у мышей линии ASC.
3. Показано, что GDNF усиливает депрессивноподобное поведение мышей.
4. Обнаружено стимулирующее влияние GDNF на стереотипное обсессивно-компульсивное поведение мышей «депрессивной» линии ASC.
5. Под влиянием GDNF обнаружены значительные изменения в экспрессии ключевых генов серотониновой системы мозга мышей ASC.
6. Выявлена существенная роль генотипа в действии GDNF на поведение и на серотониновую систему мозга мышей.

Теоретическая и научно-практическая ценность работы. Результаты данной работы, полученные на модели патологического поведения (каталептической «депрессивной» линии мышей ASC и не проявляющей депрессивноподобного поведения каталептической линии CBA), подтверждают существование взаимовлияния GDNF и серотониновой системы мозга. Вызванное

однократным введением GDNF снижение выраженности генетически детерминированной каталепсии, снижение уровня тревожности, улучшение показателей обучения в водном тесте Морриса и изменения в экспрессии генов серотониновой системы указывают на нейропротекторный потенциал GDNF и свидетельствуют о перспективности GDNF для лечения нейродегенеративных и психических расстройств. С другой стороны, усугубление депрессивноподобного и обсессивно-компульсивного поведения у мышей указывает на неоднозначность поведенческих эффектов GDNF.

Положения, выносимые на защиту:

1. Однократное центральное введение GDNF оказывает генотипзависимое влияние на поведение и серотониновую систему мозга мышей. Мыши каталептической «депрессивной» линии ASC более чувствительны к GDNF, чем мыши «недепрессивной» линии CBA.
2. GDNF приводит к изменениям в поведении, как позитивным, таким как снижение выраженности каталепсии, снижение уровня тревожности и улучшение показателей обучения, так и негативным, таким как увеличение выраженности депрессивноподобного и обсессивно-компульсивного поведения.
3. Под действием GDNF у мышей линии ASC наблюдаются изменения в экспрессии ключевых генов серотониновой системы мозга.

Апробация результатов. Полученные результаты были представлены и обсуждены на 50-ой Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2012), 7-ом сибирском съезде физиологов (Красноярск, 2012).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ, из них 3 статьи в рецензируемых отечественных (1) и международных (2) журналах, 4 тезисов на всероссийских (3) и международных (1) конференциях.

Структура и объем работы. Диссертация включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы, список цитируемой литературы (216 источников) и приложение. Работа изложена на 98 страницах, содержит 16 оригинальных рисунков и 8 таблиц.

Глава 1. Обзор литературы. Глиальный нейротрофический фактор. Функции. Влияние на поведение. Взаимодействие с 5-HT системой мозга.

1.1. Нейротрофические факторы

В 1950-х гг. Рита Леви-Монтальчини исследовала влияние опухолевых клеток на нейрональные клетки и обнаружила, что опухолевые клетки могут выделять растворимые факторы, вызывающие рост нейритов и дифференциацию нейронов. Так был открыт первый нейротрофический фактор – фактор роста нервов (Nerve Growth Factor, NGF) (Cohen et al., 1954). Спустя более 20 лет был выделен из мозга крысы второй нейротрофический фактор – нейротрофический фактор мозга (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) (Barde et al., 1982). В настоящее время исследование нейротрофических факторов активно продолжается. Именно нейрональные трофические факторы по гомологичному строению классифицируют на 3 основных подсемейства: нейротрофины (NGF, BDNF, NT-3, NT-4/5), подсемейство глиального фактора (GDNF, ART, NTN, PSP), и подсемейство цилиарного фактора (CNTF, LIF, IL-6) (Гомазков, 2011). Кроме того, существуют классификации нейротрофических факторов, основанные на их рецепторах (Abe, 2000).

К настоящему времени огромным количеством работ установлено, что нейротрофические факторы – это специализированные молекулы, отвечающие за рост, дифференциацию, миграцию и выживание развивающихся нейронов, поддержание существования и функционирования зрелых нейронов. На тканевом уровне нейротрофические факторы участвуют в регуляции синаптических связей и структур синапсов, высвобождения нейротрансмиттеров и потенциации нейропередачи. Активация нейротрофических факторов включает ретроградные и антероградные сигналы, трофические взаимодействия, аутокринный сигналинг. Благодаря ретроградным сигналам нейротрофические факторы способны воздействовать на ядерный аппарат клетки, стимулируя создание новых функционально-значимых молекул (Попова, Морозова, 2013; Иванов, 2014; Pascual et al., 2008; Saavedra et al., 2008; Fargali et al., 2012; Weissmiller, Wu, 2012; Allen et al., 2013; d'Anglemont de Tassigny et al., 2015).

GDNF – структура, сигнальные пути, распространение в организме

Глиальный нейротрофический фактор (Glial cell line-derived neurotrophic Factor, GDNF) был впервые выделен в 1993 г. из глиальных клеток крыс (Lin et al., 1993). Очищенный крысиный белок был охарактеризован как фактор выживания дофаминергических нейронов среднего мозга, который также вызывал морфологическую дифференциацию и высокоафинный обратный захват дофамина в культурах дофаминергических нейронов среднего мозга, без явного эффекта на не дофаминергические нейроны или глиальные клетки (Lin et al., 1994).

GDNF представляет собой гликозилированный гомодимерный белок, имеющий в составе семь консервативных остатков цистеина, шесть из них формируют цистеиновый узел – структурный мотив, состоящий из шести цистеиновых остатков, связанных вместе тремя дисульфидными связями (Рис. 1А). Таким образом, посредством трех дисульфидных связей стабилизируется и формируется структура димера (Airaksinen, Saarma, 2002). Димер имеет массу 33-45 кДа, тогда как мономер имеет массу приблизительно 16 кДа (Lin et al., 1994). GDNF синтезируется как препро-GDNF, состоящий из 211 аминокислотных остатков, и созревает до белка, содержащего 134 аминокислотных остатка. Созревание GDNF осуществляется путем протеолитического отщепления сигнальной последовательности фуриновой эндопротеиназой и рядом конвертаз (Lin et al., 1993; Lonka-Nevaliata et al., 2010). У человека и грызунов ген GDNF кодируется двумя изоформами мРНК, образующимися в результате альтернативного сплайсинга (полный транскрипт пре-α-про-GDNF и короткий пре-β-про-GDNF) (Suter-Crazzolara, Unsicker, 1994; Trupp et al., 1995, Рис. 1Б). Хотя продукты обеих изоформ идентичны, α и β предшественники GDNF имеют различную локализацию в клетке и регуляцию секреции (Lonka-Nevaliata et al., 2010). Известно, что зрелый BDNF и про-BDNF секретируются из нейронов. Зрелый BDNF связывается с TrkB рецептором, индуцируя нейрональное выживание, тогда как про-BDNF связывается с $p75^{NTR}$ и сортилиновым рецепторами, индуцируя апоптоз (Lee et al., 2001; Teng et al., 2005). В отличие от про-BDNF, предшественники GDNF неактивны, хотя и секретируются из клеток (Lonka-Nevaliata et al., 2010).

GDNF, а также нейртурин (NTN) (Kotzbauer et al., 1996), персефин (PSP) (Milbrandt et al., 1998) и артемин (ART) (Baloh et al., 1998) объединяют в группу, называемую лиганды семейства GDNF (GFLs). GFLs являются отдаленными родственниками суперсемейства трансформирующих факторов роста β (TGF-β), поскольку характеризуются аналогичной пространственной структурой, однако их гомология с любым членом суперсемейства не более 20% (Lin et al., 1993).

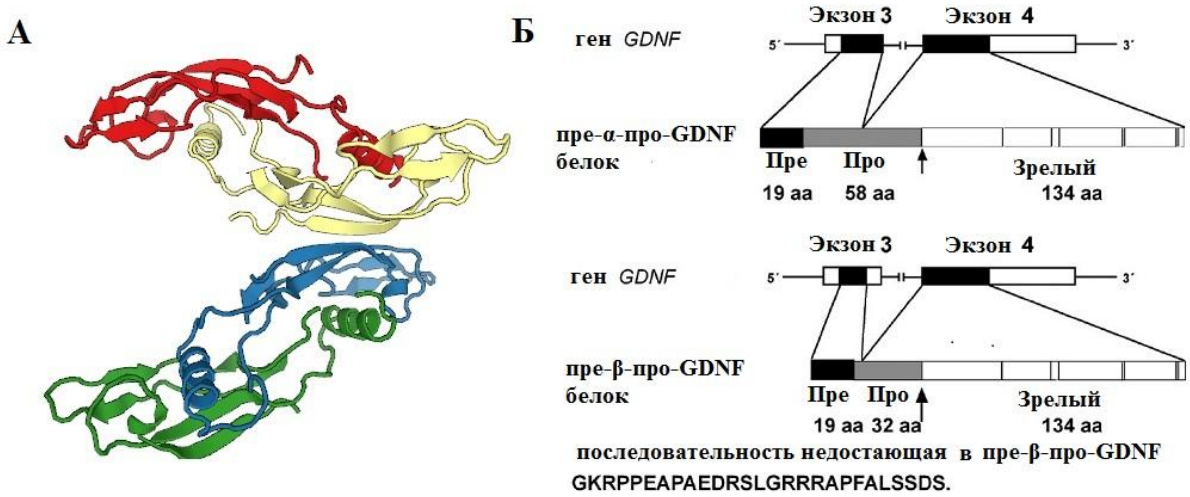


Рис.1. А – модель пространственной структуры белка GDNF (www.rcsb.org), Б – характеристика пре-α-про-GDNF и пре-β-про-GDNF сплайс вариантов (Lonka-Nevaliata et al., 2010).

GFLs опосредуют свои сигналы через общую тирозинкиназу RET (Rearranged During Transfection, Trupp et al., 1996), а их лигандная специфичность определяется типом гликозилфосфатидилинозитол (GPI)-заякоренного белка, называемого альфа рецептором GDNF семейства (GDNF family receptor alpha1-4, GFRα1-4). GDNF связывается преимущественно с GFRα1, NTN с GFRα2, ART с GFRα3 и PSP с GFRα4 (Mulligan, 2014). При запуске сигнала в клетку димер GDNF в комплексе с рецептором GFRα1 (или реже с GFRα2) связывается с трансмембранной тирозинкиназой RET, что приводит к димеризации рецепторной тирозинкиназы и аутофосфорилированию определенных остатков тирозина в её внутриклеточной части. На внутриклеточной части RET расположены, по крайней мере, шесть фосфотирозиновых остатков, действующие как сайты связывания для определенных белков, что приводит к активации сигнальных каскадов, вносящих вклад в нейрональное выживание, дифференцировку, нейритогенез,

нейропередачу. Посредством RET GDNF может активировать различные сигнальные пути, включая фосфатидилинозитол-3-киназный путь (PI3K) (Pong et al., 1998), MAPK (MAPK-митогенактивируемая протеинкиназа) сигнальный каскад (Worby et al., 1996), а также путь фосфолипазы Cγ (PLC-γ) (Poteryaev et al., 1999). Активация PI3K пути, индуцированная GDNF, приводила к морфологической дифференциации в культуре дофаминергических нейронов среднего мозга (Pong et al., 1998) и к стимуляции пролиферации энтерических нейробластов (Focke et al., 2001). Показано, что эффект GDNF, стимулирующий выживание мотонейронов спинного мозга цыпленка, вызван активацией PI3K пути (Soler et al., 1999). ERK/MAPK сигнальный путь, запускаемый GDNF, может вносить вклад в ветвление мочеточника во время нефрогенеза (Fisher et al., 2001). Путь PLC-γ играет роль в эффектах GDNF на выживание развивающихся мотонейронов спинного мозга (Fu et al., 2012). Кроме того, GDNF может запускать RET-зависимый сигнальный каскад с активацией Src-киназ (Melillo et al., 1999), а также GDNF может индуцировать сигнал RET-независимым путем, связываясь с молекулой адгезии нейрональных клеток (NCAM) с дальнейшей активацией Fyn-киназы (Paratcha et al., 2003). Еще один RET-независимый путь включает рецептор фактора роста гепатоцитов (Met) и синдеканы, связываясь с которыми GDNF запускает также путь киназ семейства Src (Trupp et al., 1999).

В ходе эмбриогенеза GDNF экспрессируется во многих отделах ЦНС, с тенденцией к уменьшению экспрессии во взрослом организме. Кроме того, он экспрессируется в еще больших количествах за пределами нервной системы в органах и тканях, таких как печень, легкие, селезенка, костный мозг, скелетная мускулатура и почки (Suter-Crazzolara, Unsicker, 1994; Trupp et al., 1995; Suzuki et al., 1998). Во взрослом мозге грызунов GDNF экспрессируются в таких структурах как стриатум, прилежащие ядра, антеровентральное и антеромедиальное ядра таламуса, обонятельный бугорок, гиппокамп, мозжечок, цингулярная кора, септум, спинной мозг, а также во внутреннем гранулярном слое клеток обонятельной луковицы (Stromberg et al., 1993; Trupp et al., 1997; Pascual et al., 2008). Но его рецепторы обладают более широким паттерном экспрессии и, следовательно, GDNF вероятно диффундирует к соседним популяциям нейронов (Glazner et al.,

1998). Экспрессия GDNF и его рецептора наблюдалась также и в культурах олигодендроцитов, что предполагает его влияние на развитие глиальных клеток (Strelau, Unsicker, 1999). Уровень мРНК GDNF в черной субстанции значительно ниже, чем в стриатуме (Choi-Lundberg, Bohn, 1995). При введении в стриатум взрослых крыс, GDNF транспортировался в тела дофаминергических клеток черной субстанции, что указывает на роль GDNF в поддержании нигростриатального дофаминергического пути (Tomac et al., 1995b). В ЦНС взрослого человека мРНК GDNF обнаружены в стриатуме, гиппокампе, коре и спинном мозге (Springer et al., 1994).

1.2. Функции GDNF

GDNF вызывает выживание, морфологическую дифференциацию клеток и высоко-аффинный захват дофамина в культуре эмбриональных дофаминергических нейронов среднего мозга (Lin et al., 1994). Однократное введение GDNF в черную субстанцию привело к долговременному (около 3 недель) увеличению оборота дофамина и возрастанию уровня дофамина в ипсилатеральном черном веществе и стриатуме, без влияния на уровень серотонина и норадреналина (Hudson et al., 1995). Однако далее было продемонстрировано, что действие GDNF не ограничивается дофаминовыми нейронами. Так, трансплантация фибробластов, экспрессирующих GDNF, предотвращала 6-гидроксидофамин-вызванную дегенерацию норадренергических нейронов голубого пятна – главного норадренергического центра в мозге (Arenas et al., 1995). Билатеральное интрастриатальное введение GDNF новорожденным крысятам привело к симптомам дистонии и вызвало увеличение синтеза дофамина и серотонина, а также ключевых ферментов их синтеза, в стриатуме и среднем мозге (Beck et al., 1996). Pascual с сотрудниками (Pascual et al., 2008) создали мышей с условным нокаутом по гену GDNF, что позволило снизить экспрессию гена уже во взрослом организме, избежав влияния компенсаторных механизмов во время развития. Авторы продемонстрировали селективную и обширную потерю дофаминергических и норадренергических нейронов голубого пятна, черного вещества и вентральной области покрышки, при этом популяции ГАМК- и холинергических нейронов затронуты не были. В культурах клеток среднего мозга

крыс был исследован эффект GDNF на плотность и морфологическую дифференциацию ГАМК- и 5-НТ-иммунореактивных клеток. Обработка GDNF увеличивала плотность и ГАМК- и 5-НТ-иммунореактивных клеток, количество и общую длину дендритов на нейрон, а также размеры тел 5-НТ нейронов (Ducray et al., 2006).

Открытие GDNF дало стимул большому количеству исследований, посвященных болезни Паркинсона, при развитии которой происходит прогрессирующая гибель дофаминергических нейронов. В экспериментах, моделирующих болезнь Паркинсона, GDNF имел мощное защитное влияние на дофаминовую систему, проявляющееся в увеличении количества тел дофаминовых клеток, плотности нервных терминалей и уровне дофамина в среднем мозге мышей (Tomac et al., 1995a). Wang с сотрудниками (Wang et al., 1996) показали, что GDNF, в отличие от BDNF, стимулирует рост волокон зародышевых трансплантатов среднего мозга от черного вещества к стриатуму у крыс с повреждением нигростриарного дофаминергического пути 6-гидроксидофамином. На аналогичной модели было показано (Kearns et al., 1997), что нейрозащитный эффект GDNF требует синтеза новых белков. Авторы предполагают, что такими белками могут быть антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза) или кальций-связывающие белки, специфические ионные насосы и транспортеры кальция (Kearns et al., 1997). На культурах нейронов среднего мозга был показан антиапоптотический эффект GDNF, осуществляемый активацией PI3K с последующей регуляцией антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-xL (Sawada et al., 2000). Показано, что GDNF стимулирует образование новых функциональных синаптических связей в культуре дофаминергических нейронов среднего мозга, и это объясняет свойство GDNF усиливать высвобождение дофамина (Bourque, Trudeau, 2000). Положительные эффекты GDNF на моделях болезни Паркинсона дали надежду на то, что экзогенное введение GDNF в средний мозг или стриатум замедлит, остановит, или даже обратит процесс потери дофаминовых нейронов черного вещества. Однако, несмотря на некоторые успешные попытки применения GDNF в клинике (Gill et al., 2003; Slevin et al., 2007), четких и стойких положительных результатов введения GDNF пациентам с

болезнью Паркинсона не показано, и необходимо продвинуться в понимании молекулярных и клеточных механизмов воздействия нейротрофических факторов (Ramasvamy et al., 2009).

Исходя из широкого тканевого паттерна экспрессии GDNF, исследователи начали изучать его влияние на другие типы клеток и тканей. Так, определили его стимулирующее влияние на мотонейроны. *In vitro* GDNF намного более мощный, чем нейротрофины, фактор выживания мотонейронов эмбрионов крысы. *In vivo* GDNF предотвращал атрофию мотонейронов в результате аксотомии (Henderson et al., 1995). Во время эмбрионального развития GDNF регулировал пул-специфичную миграцию, аксональный рост, ветвление и синаптические связи мотонейронов (Kanning, Kaplan, 2010). В период эмбрионального развития GDNF стимулирует созревание нейромышечных синапсов. Эффекты GDNF как регулятора таких синапсов опосредуются множественными пре- и постсинаптическими механизмами (Wang et al., 2002). Также показана способность GDNF стимулировать терминальное ветвление аксона и формировать синаптические связи в период постнатального развития (Keller-Peck et al., 2001). Благодаря мощному влиянию на мотонейроны GDNF считают многообещающим фактором для лечения амиотрофического латерального склероза (АЛС). Так, внутримышечная трансплантация модифицированных мезенхимальных стволовых клеток, экспрессирующих GDNF, крысам с наследственной формой АЛС значительно замедляла развитие болезни и увеличивала продолжительность жизни животных (Suzuki et al., 2008).

Как еще одно звено нейрональных цепей, отвечающих за двигательную функцию, были исследованы клетки Пуркинье. GDNF увеличивал число клеток Пуркинье в культуре, не влияя на общее количество нейронов и глиальных клеток, а также стимулировал их дифференциацию (Mount et al., 1995). Далее на культурах эмбрионов цыпленка был показан мощный эффект GDNF на выживание многих классов сенсорных и автономных нейронов и этот эффект зависел от стадии развития (Buj-Bello et al., 1995). На модели повреждения аксонов сенсорных нейронов GDNF вызывал регенерацию аксонов в спинной мозг и формирование функциональных связей (Ramer et al., 2000).

GDNF защищал нейроны коры больших полушарий после ишемического повреждения (Wang et al., 1997; Kitagawa et al., 1998). Трансплантация стволовых клеток, экспрессирующих GDNF, вызывала защитный эффект при ишемическом повреждении мозга путем сокращения объема апоптотических клеток и усиления экспрессии антиапоптотического гена Bcl-2 (Wang et al., 2011a; Yuan et al., 2013). На модели гипоксическо-ишемической энцефалопатии скорость нейронального апоптоза отрицательно коррелировала с содержанием GDNF в сыворотке крови (Li et al., 2014). Shang с соавт. (Shang et al., 2010) показали, что кроме антиапоптотического, GDNF имеет также антиаутофагальный нейропротекторный эффект. Таким образом, GDNF играет немаловажную роль в противодействии апоптозу и аутофагии.

Также был продемонстрирован ряд свойств GDNF и за пределами нервной системы. GDNF необходим для созревания мочеточника, а также для установления правильной иннервации желудочно-кишечного тракта. Нокаутные гомозиготные по GDNF мыши были нежизнеспособны и демонстрировали полный агенезис почек из-за отсутствия зачатка мочеточника и нарушенную иннервацию кишечника, в то же время выключение гена GDNF не затрагивало дифференциацию и выживание дофаминергических нейронов на стадии развития организма (Moore et al., 1996; Sanchez et al., 1996; Pichel et al., 1996). Далее было показано, что нокаутные гетерозиготы характеризуются ускоренным возрастным снижением количества клеток в черном веществе, продуцирующих ключевой фермент биосинтеза дофамина тирозингидроксилазу. Оценка поведения нокаутных гетерозиготных по GDNF мышей в тестах «открытое поле» и «вращающийся стержень» (rotarod performance test) вскрыла, что с возрастом они имеют дефицит двигательной функции и координации (Boger et al., 2007). Эти данные указывают на роль GDNF в поддержании нигростриарной дофаминергической системы и двигательной координации во время старения.

Было обнаружено, что GDNF усиливал выживание нейронов кохлеарного аппарата у морской свинки после повреждения шумом клеток внутреннего уха (Ylikoski et al., 1998). В культуре GDNF так же проявлял себя как отопротектор (Kuang et al., 1999). GDNF значительно ослаблял дегенерацию ганглиозных клеток

сетчатки после аксотомии зрительного нерва у крыс (Yan et al., 1999). У мышей с дегенерацией сетчатки инъекция GDNF вызывала гистологический и функциональный нейрозащитный эффект на родопсиновые фоторецепторы (Frasson et al., 1999). Присутствие мРНК GDNF в мезенхиме, окружающей зачаток зуба, и способность GDNF стимулировать рост отростков тройничного нерва в культуре указывают на участие GDNF в регуляции иннервации зубов (Luukko et al., 1997). Однако дальнейшие исследования опровергли роль GDNF в инициации иннервации зубов, но показали, что он существенен в цитодифференциации зубов (de Vicente et al., 2002).

Таким образом, очевидно, что без свойств GDNF участвовать в формировании почек и иннервации кишечника, существование организма млекопитающего было бы невозможно. Кроме того, GDNF оказывает выраженное нейрозащитное влияние на сенсорные и вегетативные нейроны. Трофические свойства GDNF также проявляются на моделях повреждения клеток внутреннего уха и клеток сетчатки. GDNF играет важную роль в регенерации ЦНС: запускает сигнальные каскады, способствующие замедлению апоптоза, росту дендритов и аксонов и образованию новых функциональных синаптических связей. Рассмотренные выше данные могут указывать на роль GDNF в патогенезе нейропсихиатрических заболеваний благодаря его нейрозащитному эффекту в мозге. В тоже время данные о влиянии GDNF на разные формы патологического поведения достаточно скудны.

1.3. Влияние GDNF на поведение

Трудность изучения влияния высокомолекулярного вещества на поведение организма обуславливается низкой проницаемостью через гематоэнцефалический барьер. Поэтому, хотя внутримозговое введение GDNF довольно инвазивно, оно, тем не менее, применяется для исследований на животных. Нужно сказать, что как и другие нейротрофические факторы, доставка GDNF в желудочки мозга вызывает побочные эффекты, такие как снижение аппетита и потеря массы тела (Hudson et al., 1995; Martin et al., 1996a). Примечательно то, что GDNF, введенный однократно, до 7 дней присутствует в мозге (Lapchak et al., 1997), при этом поведенческие

проявления, как и у BDNF (Naumenko et al., 2012), иногда сохраняются месяцами (Grondin et al., 2003).

Процессы, наименованные термином «синаптическая пластичность» - свойство синапсов реагировать на физиологические и патологические воздействия изменением эффективности синаптической передачи информации, лежат в основе когнитивных функций мозга. Основными моделируемыми формами синаптической пластичности являются долговременная потенциация (LTP – long-term potentiation) и долговременная депрессия (LTD – long-term depression). Эти формы синаптической пластичности вызывают соответственно долговременное увеличение и долговременное снижение передачи сигнала между нейронами. Стабильная LTP обеспечивает организацию процессов памяти и обучения (Morris, 2003). В настоящее время широко продемонстрировано участие нейротрофических факторов в механизмах синаптической пластичности, например, известно, что участие BDNF критично для генерирования устойчивых структурных изменений в синапсах гиппокампа, лежащих в основе долговременной памяти (Lu et al., 2008). Однако данные по влиянию GDNF на феномен LTP довольно скудны. Так, показано увеличение экспрессии мРНК GDNF в ответ на высокочастотную стимуляцию седалищного нерва, вызывающую LTP в нейронах задних рогов спинного мозга (Pedersen et al., 2010). На срезах мозга мышей, содержащих стриатум и кору, было показано блокирование LTP нейротоксином MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine), при этом уровень дофамина значительно снижался. Предшествующая MPTP вирусная доставка GDNF в мозг мышей восстанавливала уровень дофамина и предотвращала кортикостриарную блокаду LTP (Chen et al., 2008).

Существует несколько работ, посвященных влиянию GDNF на память. Наиболее распространенным поведенческим тестом для изучения пространственной памяти и способности к обучению служит водный лабиринт Морриса (Morris, 1984). Гетерозиготные GDNF-дефицитные мыши демонстрировали снижение показателей обучения в тесте Морриса (Gerlai et al., 2001). После ишемического повреждения мозга новорожденных крысят имплантация GDNF-секретирующих клеток в паренхиму мозга не только

сокращала зону его повреждения, но и улучшала динамику обучения в водном лабиринте Морриса (Katsuragi et al., 2005). Билатеральная доставка GDNF в CA1 область гиппокампа привела к устойчивому улучшению показателей обучения у старых крыс в данном тесте (Pertusa et al., 2008). Повышенная экспрессия GDNF в гиппокампальных астроцитах снизила когнитивный дефицит в тесте Морриса у мышей с экспериментальной болезнью Альцгеймера (Revilla et al., 2014). Таким образом, представленные выше данные указывают на участие GDNF в процессах обучения и памяти и открывают вопросы о механизмах, запускаемых GDNF для осуществления поведенческих улучшений когнитивных процессов.

Благодаря влиянию на функционирование дофаминергических нейронов среднего мозга и мотонейронов спинного мозга GDNF играет роль в регуляции двигательной активности организма, что подтверждается рядом исследований. Так, у нормальных крыс однократное введение GDNF в стриатум или черное вещество вызывало долговременное (3 недели) увеличение спонтанной и амфетамин-индуцированной двигательной активности, снижение потребления пищи и воды, длящееся 7-10 дней, а также массы тела (Hudson et al., 1995; Martin et al., 1996a; Martin et al., 1996b). Уровень спонтанной двигательной активности возрастал у молодых крыс через неделю (Hebert et al., 1996), а у стареющих крыс – через три недели (Hebert, Gerhardt, 1997) после интранигрального введения GDNF. Инъекции GDNF в стриатум вызывали дозозависимое улучшение двигательной координации у стареющих крыс (Bowenkamp et al., 1996). Имплантация GDNF-продуцирующих фибробластов в стриатум также вызывала увеличение двигательной активности у стареющих крыс (Emerich et al., 1996). Хроническое внутрижелудочковое введение GDNF увеличило скорость движений стареющих обезьян до уровня, демонстрируемого молодыми обезьянами, и этот эффект держался длительный период (2 месяца) (Grondin et al., 2003). Вызываемое GDNF увеличение двигательной активности в тесте «открытое поле» показано и на экспериментальных моделях болезни Паркинсона (Bowenkamp et al., 1997; Biju et al., 2010). И, наоборот, делеция гена, кодирующего белок GDNF, значительно снижала двигательную активность в тесте «открытое поле» у взрослых мышей с

условным нокаутом (Pascual et al., 2008). Таким образом, очевидно, что GDNF необходим для нормального выполнения двигательных функций.

Вопрос об участии GDNF в механизмах стереотипии и связанных с ними обсессивно-компульсивных расстройствах (ОКР) остается открытым. Обсессивно-компульсивный синдром, или невроз навязчивых состояний – психическое расстройство, характеризующееся повторяющимися навязчивыми мыслями (обсессиями), которые приводят к повторяющимся поведенческим актам (компульсиям), направленным на избавление от стресса, вызванного навязчивыми тревожными мыслями. Одной из причин ОКР принято считать нарушение функционирования кортико-стриарно-таламо-кортикального контура регуляции и дисбаланс нейромедиаторов, в особенности серотонина и дофамина (Stain, 2002). Косвенным указателем на существенную роль серотонина является то, что ингибиторы обратного захвата серотонина относят к наиболее эффективным препаратам лечения ОКР (Dougherty et al., 2004). Развитие и пластичность нейрональных схем, вовлеченных в такие расстройства, регулируются нейротрофическими факторами (Fontenelle et al., 2012; Suliman et al., 2013). В литературе мы встретили лишь два исследования уровня GDNF в сыворотке крови пациентов с ОКР, и, несмотря на положительную корреляцию уровня GDNF со степенью одного из частых симптомов ОКР – синдромом мытья рук (Fontenelle et al., 2012) и эффективными дозами антидепрессантов (Tunca et al., 2015), оба указывают на неизмененный уровень GDNF в периферической крови по сравнению с контрольной группой (Fontenelle et al., 2012; Tunca et al., 2015).

Известно, что депрессивные расстройства могут сопровождаться потерей нейронов и сокращением объема структур мозга, вовлекающихся в психические функции (Campbell et al., 2004). Нейротрофические факторы напрямую вовлекаются в поддержание структурной целостности и функции нейронов во взрослом мозге. В 1997 году Рональдом Дьюманом (Duman et al., 1997) была выдвинута нейротрофическая гипотеза депрессии, суть которой состоит в том, что «стресс-индуцируемая уязвимость и терапевтическое действие антидепрессантов осуществляется внутриклеточными механизмами, которые снижают или увеличивают соответственно нейротрофические факторы, необходимые для

выживания и функционирования отдельных нейронов». Ключевая роль BDNF была неоднократно продемонстрирована: есть данные о снижении уровня BDNF у пациентов с депрессивными заболеваниями (Shimizu et al., 2003; Polyakova et al., 2015), тогда как лечение антидепрессантами повышает его уровень в крови (Shimizu et al., 2003). Показано также снижение времени замирания в тесте «подвешивание за хвост» под влиянием однократного введения BDNF у мышей с чертами депрессивноподобного поведения (Naumenko et al., 2012).

Данные о роли GDNF в механизмах депрессии и антидепрессантного действия менее полные и более противоречивые. Было показано, что обработка классическими антидепрессантами глиальных клеток C6, имеющих высокий уровень синтеза и высвобождения GDNF, привела к еще большему повышению экспрессии гена и синтеза белка GDNF (Hisaoka et al., 2001; Golan et al., 2011). Усиление транскрипции и синтеза GDNF может служить общим механизмом действия антидепрессантов. В ряде клинических исследований было показано, что уровень GDNF в крови пациентов с депрессивными заболеваниями снижен (Takebayashi et al., 2006; Otsuki et al., 2008; Diniz et al., 2012; Pallavi et al., 2013). Однако было найдено и повышение содержания GDNF в сыворотке крови пациентов с биполярным депрессивным расстройством (Rosa et al., 2006) и у пациентов с депрессией позднего возраста (Wang et al., 2011b). При исследовании биполярных аффективных расстройств не было выявлено различий между уровнями периферического GDNF у пациентов в стадии мании и здоровыми контрольными субъектами, при этом у пациентов в стадии интермиссии (светлые промежутки психического здоровья) наблюдалось увеличение уровня GDNF по сравнению с первыми двумя группами (Barbosa et al., 2011). В другой работе (Tunca et al., 2015) не наблюдали изменений уровня GDNF во время депрессивной стадии, тогда как в стадии мании регистрировали повышенные уровни по сравнению со здоровыми субъектами. Однако, сопоставляя подобные данные необходимо учитывать то, что пациенты подвергались фармакологическому лечению, которое могло повлиять на уровни нейротрофических факторов. Таким образом, не исключено, что повышение уровня GDNF у пациентов в стадии интермиссии было следствием лечения антидепрессантами. Существуют лишь два исследования,

проведенные одной группой ученых, касающихся влияния антидепрессантной терапии на уровень GDNF. X. Zhang с сотрудниками (Zhang et al., 2010) показали, что уровни GDNF в сыворотке у пациентов с биполярным расстройством во время мании и депрессии были значительно ниже по сравнению со здоровыми людьми, при этом лечение антидепрессантами в течение 8 недель повышало уровень периферического GDNF до контрольных значений. У пациентов с большим депрессивным расстройством также были найдены сниженные уровни периферического GDNF по сравнению с контрольным субъектами, и 8 недельное лечение антидепрессантами значительно повысило их (Zhang et al., 2008). Таким образом, изменение уровня GDNF в сыворотке крови у пациентов может служить показателем патологических либо компенсаторных механизмов.

На модели депрессии, индуцируемой хроническим неизбегаемым стрессом, было показано, что хроническое введение антидепрессанта кломипрамина приводило к повышению уровня GDNF в гиппокампе крыс и поведенческим улучшениям (снижению длительности замирания в тесте принудительного плавания и увеличению уровня двигательной активности в тесте «открытое поле»), что указывает на участие GDNF в поведенческом ответе на данный антидепрессант (Liu et al., 2012). Uchida с коллегами (Uchida et al., 2011) исследовали стрессоустойчивость двух линий мышей. В результате воздействия хронического слабого стресса, мыши линии BALB/cJ демонстрировали увеличенное время неподвижности в тесте принудительного плавания, при этом хроническое введение имипрамина восстанавливало этот параметр до контрольных значений. В тесте на социальное взаимодействие хронический слабый стресс привел к уменьшению времени взаимодействия среди мышей BALB/cJ, что также указывает на депрессивноподобное поведение стрессированных мышей. Мыши линии C57BL/6J показали хорошую стрессоустойчивость, при этом в вентральном стриатуме уровни мРНК и белка GDNF были снижены у BALB/cJ и увеличены у C57BL/6J по сравнению с нестрессируемыми контрольными мышами. Таким образом, рассматривается роль GDNF в адаптивном ответе на стрессовые воздействия.

1.4. Взаимодействие между GDNF и серотониновой системой мозга

Серотониновая система мозга – это совокупность нейронов, способных синтезировать и секретировать серотонин (5-HT). 5-HT является нейромедиатором, участвующим в большом разнообразии функций мозговой деятельности, которая обуславливается, во-первых, обилием связей 5-HT нейронов, во-вторых, широким паттерном 5-HT рецепторов. Так, в мозге мышей существует 14 подтипов 5-HT рецепторов (Попова, Науменко, 2010; Barnes, Sharp, 1999; Hoyer et al., 2002; Bockaert et al., 2006; Berger et al., 2009; Filip, Bader, 2009). Наиболее изученными и значимыми в контексте психопатологического поведения рецепторами являются 5-HT_{1A} (Savitz et al., 2009; Popova, Naumenko, 2013) и 5-HT_{2A} (Celada et al., 2004; Carr, Lucki, 2011) рецепторы. Плотность 5-HT_{1A} рецепторов высока в кортикальных областях, ядрах шва среднего мозга, перегородке и лимбических областях мозга, особенно в гиппокампе. Наивысшие плотности 5-HT_{2A} рецепторов найдены в кортикальных областях, хвостатом ядре, прилежащих ядрах, обонятельных бугорках и гиппокампе (Barnes, Sharp, 1999). Ключевая роль в синтезе 5-HT мозга принадлежит ферменту триптофангидроксилазе-2 (ТПГ-2) (Walther et al., 2003; Popova, Kulikov, 2010). После высвобождения в синаптическую щель и связывания с рецепторами молекулы 5-HT захватываются обратно в пресинаптический нейрон или глиальные клетки с помощью белков-переносчиков – 5-HT транспортеров (5-HTT). Концентрация нейротрансмиттеров в синаптической щели активно регулируется, создавая пространственные и временные ограничения химической передачи сигнала. Наивысшие уровни экспрессии генов, кодирующих ТПГ-2 и 5-HTT, найдены в среднем мозге (Blakely et al., 1991; Walther et al., 2003).

Таким образом, изменения в уровне мРНК генов кодирующих ТПГ-2, 5-HTT, 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторы в мозге на фоне внешнего воздействия или генетического отбора будут отражать влияние на функциональную активность 5-HT системы мозга. Так у мышей линий ASC и CBA, характеризующихся генетической предрасположенностью к каталепсии, увеличена функциональная активность 5-HT_{1A} рецепторов по сравнению с некаталептической линией AKR, при этом уровни экспрессии гена данного рецептора не различались (Науменко и др., 2006). У мышей линий ASC и CBA наблюдали сниженную функциональную

активность 5-HT_{2A} рецепторов и сниженную экспрессию гена 5-HT_{2A} рецептора во фронтальной коре (Naumenko et al., 2010). Внутримозговое однократное введение BDNF сократило проявления каталепсии у мышей линий ASC и CBA, снизило выраженность депрессивноподобного поведения мышей ASC в тесте «подвешивание за хвост», и при этом заметно повлияло на показатели функциональной активности 5-HT системы мозга (Naumenko et al., 2012). Можно полагать, что нейротрофин BDNF вовлекается в антидепрессантный эффект путем модуляции 5-HT системы (Vaidya et al., 1999; Martinowich, Lu, 2008). Тогда как способность GDNF регулировать функциональную активность 5-HT системы мозга у животных с нарушениями поведения остается не изученной.

Однако, известно, что GDNF может влиять на морфологические характеристики 5-HT нейронов в клеточной культуре (Ducray et al., 2006), а также вызывать увеличение количества 5-HT и его метаболита 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) в стриатуме и среднем мозге крысят (Beck et al., 1996). В другом исследовании показан специфический эффект GDNF, направленный на дофаминовые нейроны. Введение GDNF в стриатум предотвращало вызванное нейротоксином метамфетамином понижение уровня дофамина в ипсилатеральном стриатуме, тогда как на уровне 5-HT введение GDNF никак не отразилось (Cass, 1996). В то же время дальнейшие работы свидетельствуют об участии GDNF в регуляции 5-HT системы. Так, однократное внутрижелудочковое введение GDNF привело к увеличению уровня 5-HT в вентральной области покрышки, и 5-ГИУК в гипоталамусе. Повторное введение GDNF (через 6 недель после первого введения) увеличило уровень 5-ГИУК в черном веществе (Martin et al., 1996a). Эти же авторы далее проводили эксперименты по введению GDNF в стриатум или черное вещество крыс и оценивали уровень моноаминов через 2 и 6 недель. Через 2 недели после интрастриатального введения были обнаружены повышенные уровни 5-ГИУК в ипсилатеральном стриатуме, а также значительное повышение 5-HT в ипсилатеральном черном веществе. Спустя 6 недель после интранигрального введения GDNF наблюдалось повышение уровня 5-ГИУК в ипси- и контралатеральном черном веществе (Martin et al., 1996b). Тогда как в стриатуме 3 месячных гетерозиготных нокаутных по гену GDNF мышей не наблюдали

изменений в уровне 5-HT по сравнению с мышами дикого типа, в стриатуме 12 месячных нокаутных мышей регистрировали сниженные уровни 5-HT, указывая на возрастные изменения 5-HT системы мозга под влиянием GDNF (Boger et al., 2007). Показано также взаимодействие GDNF и 5-HT за пределами нервной системы, где GDNF усиливает синаптогенез и межклеточные коммуникации в культуре клеток мышечной оболочки кишечника и повышает экспрессию гена 5-HT_3 рецептора (Zeng et al., 2010).

Японские исследователи продемонстрировали ряд свойств GDNF на культурах крысиных глиальных клеток C6, данные клетки имеют высокий уровень синтеза и высвобождения GDNF (Hisaoka et al., 2001). Во-первых, было показано время- и дозозависимое увеличение синтеза мРНК и белка GDNF в ответ на обработку клеток антидепрессантами разных типов, среди которых селективные ингибиторы обратного захвата 5-HT – флуоксетин и пароксетин. Во-вторых, на примере трициклического антидепрессанта амитриптилина была показана активация MEK/MAPK каскада, поскольку ингибиторы MEK подавляли индуцированные антидепрессантом синтез и высвобождение GDNF. Так как антидепрессанты, которые увеличивают уровень 5-HT, индуцируют синтез GDNF, то логичным было проверить влияние самого 5-HT на уровень GDNF. Этой же группой исследователей (Hisaoka et al., 2004) было показано время- и дозозависимое увеличение синтеза мРНК и белка GDNF в результате 48 часового воздействия 5-HT на культуру глиальных клеток C6, тогда как норадреналин и дофамин на уровень GDNF не влияли. При этом 5-HT-индуцированный синтез GDNF частично подавлялся ингибиторами 5-HT_{2A} рецепторов и антагонистами MEK/MAPK сигнального каскада. Далее было показано (Tsuchioka et al., 2008), что 5-HT_2 рецептор: 1) вызывает селективную трансактивацию рецептора фактора роста фибробластов FGFR2; 2) индуцирует фосфорилирование ERK и последующую экспрессию гена GDNF).

Несмотря на имеющиеся данные по взаимовлиянию GDNF и 5-HT, нет работ, оценивающих эффекты GDNF на моделях психопатологий. Поэтому представляется важным оценить воздействие GDNF на мышей с наследственными

нарушениями 5-HT системы, представляющими уникальный паттерн патологического поведения.

Глава 2. Материалы и методы

2.1. Экспериментальные животные

Эксперименты проводились на половозрелых самцах мышей двух линий. Линия мышей CBA/Lac (n=42) является генетической моделью каталепсии, так как 50 % мышей демонстрируют замирание в ответ на серию щипков в области загривка (pinch-induced catalepsy). Линия мышей ASC (Antidepressants Sensitive Catalepsy) (n=37) была получена в лаборатории нейрогеномики поведения д.б.н. А. В. Куликовым путем селекции на предрасположенность к каталептическому замиранию из популяции бэккросов между мышами некаталептической линии AKR и каталептической линии CBA (Базовкина и др., 2005). 70-80 % мышей ASC проявляют стойкую реакцию каталепсии. Селекция на высокую предрасположенность к каталепсии привела к формированию депрессивноподобных характеристик поведения: сниженная двигательная и исследовательская активность в тесте «открытое поле»; увеличение времени замирания в тесте принудительного плавания и в тесте «подвешивание за хвост»; снижение половой мотивации по сравнению с родительскими линиями (Базовкина и др., 2005; Тихонова и др., 2010). У мышей линии ASC высокая наследственная патологическая каталепсия нормализуется хроническим, но не острым введением классического трициклического антидепрессанта имипрамина (Тихонова и др., 2006) и широко используемого в клинике антидепрессанта из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина флуоксетина (Тихонова и др., 2009). Модель генетической предрасположенности к каталепсии у мышей соответствует двум основным требованиям, предъявляемым к экспериментальным моделям депрессии (Willner, 1990): face validity (сходство симптомов депрессивных расстройств с депрессивноподобными чертами модели) и predictive validity (сходство реакции на введение антидепрессантов), и является удобным инструментом для изучения механизмов развития депрессии и действия антидепрессантов (Тихонова и др., 2009).

Мышей содержали в виварии Института Цитологии и Генетики СО РАН (Новосибирск), в группах по 10 особей в клетках размером 40 × 25 × 12 см в

стандартных условиях (температура 22 ± 2ºС, относительная влажность 65%, естественное освещение (16 часов света и 8 часов темноты), со свободным доступом к стандартной пище и воде). В экспериментах участвовали самцы мышей 3-4 месячного возраста массой 25-30 г. За 2 дня до начала тестирования поведения мышей рассаживали в индивидуальные клетки того же размера для исключения влияния группового эффекта. Исследования на животных проводили с соблюдением правил Совета Европейского Сообщества (Директива 86/309/ЕЕС от 24 ноября 1986 г.).

Поведение животных автоматически регистрировали при помощи цифровой видеокамеры, соединенной с компьютером, и анализировали, используя компьютерную программу EthoStudio (Kulikov et al., 2008).

2.2. Препараты

8-OH-DPAT (8-гидрокси-2-(ди-n-пропиламино)тетралин; Sigma, США). Селективный агонист 5-HT_{1A} рецепторов (pKi = 8.82±0.01 нМ). Препарат растворяли в физиологическом растворе и вводили животным внутрибрюшинно в дозе 1.0 мг/кг.

DOI (1-(2,5-диметокси-4-йодофенил)-2-аминопропан; Sigma, Tocris Bioscience, США). Агонист 5-HT_{2A} рецепторов (Ki = 0.7 нМ), демонстрирующий слабое сродство к 5-HT_{2C} рецепторам (Ki = 2.4 нМ) и незначительное сродство к 5-HT_{2B} рецепторам (Ki = 20нМ) (согласно описанию Tocris Bioscience, USA; http://www.tocris.com/dispprod.php?ItemId=169068). Препарат растворяли в физиологическом растворе и вводили животным внутрибрюшинно в дозе 1.0 мг/кг. Животные контрольной группы получали инъекции физиологического раствора.

GDNF человеческий рекомбинантный (“Prepotech”, Англия) разводили в стерильной дистиллированной воде и вводили в дозе 0.8 мкг в объеме 5 мкл в левый боковой желудочек мозга (*AP* –0.5 мм, *L* –1.6 мм, *DV* –2 мм) (Slotnick, Leonard, 1975) с помощью стереотаксиса (TSE Systems, Германия). Контрольным животным вводили дистиллированную воду в эквивалентном объеме.

2.3. Поведенческие тесты

Было проведено четыре серии экспериментов, по две серии на каждую линию мышей. Тестирование регистрируемых в данной работе видов поведения разделяли по двум сериям равномерно для облегчения воздействия стресса на мышей, подверженных поведенческим испытаниям.

Тест на щипковую каталепсию (pinch induced catalepsy). Впервые Ornstein и Amir показали, что некоторые мыши замирают в ответ на щипки кожи в области загривка (Ornstein, Amir, 1981). В наших экспериментах каталепсию у мышей вызывали щипком загривка в течение 5 с, после чего мышь помещали на две перекладины, расположенные параллельно под углом 45° на расстоянии 5 см одна от другой, и на высоте 25 см от поверхности стола, так что передние лапки животного находились на 3 см выше задних, и осторожно отпускали. Регистрировали время замирания – время в течение которого мышь не совершала попыток покинуть перекладины, сменить позу или не делала заметных движений головой или туловищем (Куликов и др., 1989). Тест считали положительным, если мышь сохраняла неподвижность 20 с и более. Время теста ограничивали 120 с, после чего животное возвращали в клетку и через 1–2 мин повторяли тестирование. Животное, дающее 3 положительных теста из 10, считали каталептиком. Выраженность каталепсии оценивали по доле мышей-каталептиков и среднему времени замирания (с) из полученных трех (из 10) тестов с наибольшими значениями времени замирания. Тестирование проводили на 8 сутки после введения GDNF.

Тест «открытое поле» (open field test) традиционно используют для оценки двигательной активности, тревожности и исследовательского поведения (Walsh, Cummins, 1976). Тест проводили на круглой арене диаметром 40 см с полупрозрачным полом и бортиками высотой 25 см с инвертированным освещением. Арена была ярко подсвечена с помощью двух галогеновых ламп (25 Вт каждая), которые располагались под ареной на расстоянии 40 см. Животное помещали около стенки и в течение 5 мин регистрировали пройденный путь (см), время пребывания в центре арены (круг диаметром 20 см), число вертикальных

стоек, число и продолжительность актов умывания. Тест проводили на 8 сутки после введения GDNF.

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» (elevated plus maze) был выполнен при помощи установки, состоящей из четырех перекрещивающихся рукавов, двух открытых и двух закрытых (35x7 см). Закрытые рукава имели боковые стенки высотой 20 см. Установка была расположена на высоте 50 см от пола и освещалась лампой мощностью 60 Вт. Мышь помещали в центр лабиринта головой к закрытому рукаву. В течение 5 минут теста измеряли время, проведенное животным в закрытых рукавах и центре лабиринта. Тест приподнятого крестообразного лабиринта позволяет оценить уровень тревожности грызунов путем сопоставления продолжительности нахождения в закрытых и открытых рукавах лабиринта, а также сравнения числа выглядываний из закрытых рукавов и заглядываний вниз (Pellow et al., 1985). Тестирование проводили на 10 сутки после введения GDNF.

Тест «свет-темнота» (light-dark box) был выполнен с использованием пластиковой камеры (20x20x27 см), окрашенной в белый цвет и разделенной непрозрачной перегородкой с отверстием 7x7 см на два отсека – светлый с полом из полупрозрачного пластика, освещенный снизу двумя галогеновыми лампами мощностью 12 Вт, и темный, закрытый отсек. Животные были помещены в светлый отсек головой к отверстию в перегородке. В течение 5 минут теста измеряли число заходов в темный отсек, латентное время захода в темный отсек, время нахождения в темном отсеке и число выглядываний в светлый отсек. Этот тест используется для оценки уровня тревожности животного. Он основан на конфликте между врожденной неприязнью грызунов к ярко освещенным участкам и спонтанной исследовательской активностью (Crawley, Goodwin, 1980). Данный тест проводили на 11 сутки после введения GDNF.

Тест принудительного плавания (тест Порсолта, forced swim test, FST) традиционно используется для оценки «депрессивности» грызунов, так как моделирует безвыходное положение (Porsolt et al., 1977; Liu et al., 2012). Тест проводили с использованием установки, состоящей из прямоугольного

пластикового резервуара с боковыми матовыми непрозрачными гранями и полупрозрачным дном (14x14x22 см), освещенный снизу двумя галогеновыми лампами мощностью 12 Вт. Животное помещали в резервуар, заполненный на 3/4 водой (25-26ºC). После 120 с адаптации в течение 4 мин регистрировали суммарное время неподвижности, с учетом слабых движений необходимых для поддержания головы над водой. Тест проводили на 12-13 сутки после введения GDNF.

Тест «подвешивание за хвост» (tail suspension test, TST) является релевантным для оценки депрессивного поведения мышей и специфического психотропного действия антидепрессантов (Steru et al., 1985). Для TST животные были подвешены за хвост при помощи липкой ленты на горизонтальной перекладине, расположенной на высоте 30 см. В течение 6 мин теста измерялось время полной неподвижности животного и число эпизодов неподвижности. Тест проводили на 14-17 сутки после введения GDNF.

Тест «закапывание шариков» (marble burying test). Тест «закапывание шариков» применяется для исследования выраженности обсессивно-компульсивного (ОКР-подобного) поведения мышей и для скрининга антикомпульсивных препаратов (Nicolas et al., 2006; Thomas et al., 2009), поскольку данный тест отвечает таким критериям моделей психопатологий, как predictive (соответствующая фармакологическая коррекция) и face (поведенческая симптоматика) validity (Joel, 2006)). Считается, что животные используют доступный материал подстилки, чтобы закопать нежелательные источники дискомфорта, находящиеся в домашнем окружении. В стандартную клетку плотно укладывали опилки слоем 3 см, после чего на поверхность слоя опилок раскладывали 20 стеклянных шариков, диаметром 1 см в случайном порядке. Животное помещали в подготовленную клетку и оставляли на 30 минут. После чего животное аккуратно извлекали и проводили подсчет шариков, закопанных более чем на 2/3. Количество закопанных шариков отражает выраженность стереотипного поведения животного. Данный тест проводили на 10-11 сутки после введения GDNF.

Водный лабиринт Морриса широко применяется для изучения пространственной памяти и процесса обучения, а также для оценки когнитивной функции у грызунов (Morris, 1984). Установка для теста представляла собой круглый бассейн диаметром 70 см из полупрозрачного белого матового пластика с пластиковыми стенками высотой 25 см. Бассейн был заполнен водой температурой 25±2°C с добавлением сухого молока для непрозрачности. В одном и том же месте располагали платформу диаметром 5 см из прозрачного материала (стекла) на 0,5 см ниже поверхности воды. Арена бассейна была ярко подсвечена с помощью четырех галогеновых ламп (25 Вт), которые располагались под ареной на расстоянии 40 см (инвертированная подсветка). Обучение мышей проходило в течение четырех дней, каждый день включал три тестирования для каждой мыши. В начале каждого тестирования мышь погружали в воду в одном и том же месте мордочкой к стенке, и позволяли свободно искать платформу не более одной минуты. Если мышь находила платформу, то давали ей посидеть на ней в течение 15 с. Если мышь не находила платформу в течение минуты, то её принудительно сажали на неё и, при необходимости, удерживали в течение 15 с (в этом случае латентное время нахождения платформы считали равным 60 с). Чтобы оценить успешность обучения, для каждого тестирования определяли длину пройденного пути (см) и латентное время нахождения платформы (с). Данный тест проводили на 16-19 сутки после введения GDNF.

2.3. Определение функциональной активности 5-HT рецепторов

5-HT$_{1A}$ рецептор. Для выявления функциональной активности 5-HT$_{1A}$ рецепторов определяли выраженность гипотермической реакции в ответ на введение 8-OH-DPAT (Overstreet et al., 1996). Препарат вводили в дозе 1 мг/кг внутрибрюшинно. Температуру тела определяли ректальным датчиком для мышей или крыс (Phymep, Paris) с помощью микрокомпьютер-термометра (Hanna Instrument, Singapore) до введения и через 20 мин после введения препарата. Выраженность гипотермического ответа выражали как разницу конечной (в случае многократного измерения – минимальной конечной) и начальной температуры тела (delta tºC). Оценку функциональной активности рецепторов проводили на 21-24 сутки после введения GDNF.

5-HT_{2A} рецептор. Функциональная активность 5-HT_{2A} рецепторов была определена по количеству опосредованных 5-HT_{2A} рецепторами встряхиваний головой, вызванных агонистом 5-HT_{2A} рецепторов – DOI (Canal, Morgan, 2012). Препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг. Количество встряхиваний головой измерялось через 5 мин после введения препарата в течение 20 мин. Тестирование проводили на 17-18 сутки после введения GDNF.

2.4. Определение экспрессии генов

Животных декапитировали на 22-25 сутки после введения GDNF, вынимали мозг и на холоде выделяли средний мозг, гиппокамп и фронтальную кору, которые затем помещали в стерильные пробирки «Эппендорф» объемом 1.5 мл, замораживали в жидком азоте и хранили при -70°С до выделения РНК. Выбор структур мозга был обусловлен следующими соображениями. В среднем мозге локализованы тела 5-НТ нейронов, и экспрессируются гены *Tph2* (кодирует фермент ТПГ-2) и *Slc6a4* (кодирует 5-НТ - транспортер). В коре и гиппокампе локализованы окончания 5-НТ нейронов. Уровень мРНК генов *Htr1a* (кодирует 5-HT_{1A}-рецептор) и *Htr2a* (кодирует 5-HT_{2A}-рецептор) определяли во фронтальной коре, гиппокампе и среднем мозге.

Выделение РНК. Общая РНК была выделена фенолом, хлороформом и гуанидинтиоцианатом по Chomczynski, Sacchi (Chomczynski, Sacchi, 1987), для удаления примесей геномной ДНК обработана ДНКазой без РНКазной активности (1 ед. на пробу, 37°С, 10 мин) и повторно экстрагирована фенолом и хлороформом (Науменко, Куликов, 2006). Образцы РНК разводили до концентрации 125 мкг/мл водой, обработанной диэтилпирокарбонатом, и хранили при –70°С.

Отсутствие примесей геномной ДНК в общей РНК препаратов определяли с помощью ПЦР реакции с праймером β, связывающимся специфично с генами *Acta1, Lrrc 58, Actb* (Табл.1). Препараты РНК не давали сигналов геномной ДНК при 36 циклах амплификации.

ОТ-ПЦР. Для проведения обратной транскрипции в стерильной пробирке объемом 500 мкл смешивали 8 мкл (1мкг) общей РНК с 180 нг статистического праймера длиной 6 нуклеотидов (конечная концентрация праймера составила 5

мкМ) и 2.25 мкмолями стерильного KCl в объёме 16 мкл, денатурировали при 94°С в течение 5 мин на амплификаторе Hybaid Omn-E (UK), после чего был проведен отжиг при 41°С в течение 15 мин, затем было добавлено 15 мкл смеси, содержащей обратную транскриптазу M-MLV (200 ед.), Tris-HCl (pH = 8.3, 0.225 мкмоль), смесь dNTP (0.015 мкмоль каждого), DTT (0.225 мкмоль) и $MnCl_2$ (0.03 мкмоль). Полученная смесь (конечным объёмом 31 мкл) была инкубирована при 41°С в течение 60 мин. Примесь геномной ДНК в препаратах кДНК определяли, используя ПЦР с праймерами, специфичными для пятого и шестого экзонов триптофангидроксилазы 1 (*Tph1*) мыши (таблица 1), которая не экспрессируется в головном мозге (Науменко, Куликов, 2006). Синтезированная кДНК хранилась при температуре -20°С.

Полимеразная цепная реакция. Количественную оценку уровня экспрессии мРНК генов *Tph2, Slc6a4, Htr1a* и *Htr2a* проводили по отношению к экспрессии «гена домашнего хозяйства» глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы (*Gapdh*), который служил внутренним стандартом обратной транскрипции. В качестве внешнего стандарта для определения числа копий мРНК соответствующих генов использовали ДНК мыши C57Bl/6, которая была выделена из печени, очищена и её оптическая плотность была измерена при 260 и 280 нм (Науменко, Куликов, 2006). В дальнейшем ДНК была разведена до ряда концентраций от 1.25 до 30 нг/мкл. Поскольку размер генома мыши составляет 2.493×10^9 п.н. и весит, соответственно, около 5 пг, то использованные внешние ДНК-стандарты содержали от 250 до 6000 копий изучаемых генов в 1 мкл, соответственно.

Нуклеотидные последовательности, температуры отжига и размеры ампликонов представлены в таблице 1. Концентрацию мРНК генов *Tph2, Slc6a4, Htr1a* и *Htr2a* выражали в числе копий на 100 копий мРНК *Gapdh*.

Аликвота кДНК объемом 1 мкл была смешана с 2 мкл буфера для ПЦР (0.67 М Tris-HCl, pH = 9; 0.17 М $(NH_4)_2SO_4$; 0.1 % Тритон X-100), 0,3 мкл $MgCl_2$ (0.1 М), 1 мкл смеси dNTP (по 4 ммоль каждого), 2.5 мкл смеси соответствующего прямого и обратного праймера (по 2.5 мкМ каждого; табл. 1), 1 ед. Taq полимеразы и доведена стерильной водой до конечного объёма 20 мкл. Одновременно в тех же

условиях проводили амплификацию серии разведений геномной ДНК, используемой в качестве внешнего стандарта. Концентрации для стандартной кривой подбирались в предварительном эксперименте и гарантировали линейную зависимость интенсивности амплификации от концентрации стандарта. Диапазон серии разведений стандартов подбирался таким образом, чтобы концентрации исследуемых образцов ложились на стандартную кривую. Амплификацию проводили в режиме hot start. ПЦР была проведена на амплификаторе Eppendorf Master Cycler (Germany) в следующих условиях: 3 мин при 94°C – 1 цикл; 10 сек при 94°C, 30 сек при соответствующей температуре отжига (табл. 1), 15 сек при 72°C, 22 цикла (для *Gapdh* в среднем мозге, гиппокампе и фронтальной коре), 27 циклов (для *Tph2* в среднем мозге), 28 циклов (для *Htr1a* во всех структурах, и для *Htr2a* во фронтальной коре), 29 циклов (для 5-HT_{2A} в среднем мозге и гиппокампе и для *Slc6a4* в среднем мозге) и 2 мин при 72°C – 1 цикл. Количество циклов подобрано в предварительных экспериментах и гарантирует экспоненциальную фазу кривой амплификации.

Электрофорез. Продукты амплификации были разделены с помощью электрофореза в 2% агарозном геле (2 г агарозы и 4 мкл бромистого этидия на 100 мл TBEx0.5). В качестве электрофоретического буфера использовали 0.5-кратный трис-боратный буфер (TBE: 89 mM Tris, 89 mM H_3BO_3, 2 mM EDTA, pH = 8). Визуализацию ампликонов осуществляли путем окрашивания геля бромистым этидием (конечная концентрация бромистого этидия в используемом для окрашивания растворе трис-боратного буфера составила 0.5 мкг/мл).

После проведения ПЦР в пробирки добавляли по 5 мкл буфера для нанесения (0.35% оранжевого G в 32 % сахарозе), перемешивали и затем наносили по 20 мкл в лунку 2% агарозного геля. Первоначально наносились пробы, а затем по возрастанию внешние стандарты. Электрофорез проводили при напряжении 200 V в течение 15 мин в аппарате для горизонтального электрофореза (“Медиген”, Новосибирск, Россия). Гель фотографировали фотокамерой Olimpus в ультрафиолетовом свете (300 нм) на трансиллюминаторе и изображение полос продуктов ПЦР заносили в компьютер. Анализ изображения проводили с помощью программы Scion Image (Scion Corporation, США; http://www.scioncorp.com).

Интенсивность флюоресценции полос проб калибровали по кривой, построенной на основании интенсивности флюоресценции полос внешнего стандарта, и рассчитывали число копий мРНК генов в 1 мкл раствора кДНК. Экспрессию выражали в числе копий кДНК исследуемых генов, отнесенных на 100 копий кДНК внутреннего стандарта (*Gapdh*).

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности и характеристики праймеров, используемых в работе.

Ген	Нуклеотидная последовательность	Температура отжига, °С	Длина ПЦР продукта, п.н.
5-HT_{1A} (*Htr1a*)	F 5’-gactgccaccctctgccctatatc-3’ R 5’-tcagcaaggcaaacaattccag-3’	62	200
5-HT_{2A} (*Htr2a*)	F 5’-agaagccaccttgtgtgtga-3’ R 5’-ttgctcattgctgatggact-3’	61	169
ТПГ-2 (*Tph2*)	F 5’-cattcctcgcacaattccagtcg-3’ R5’-agtctacatccatcccaactgctg-3’	61	239
5-НТ-транспортер (*Slc6a4*)	F 5’-aagccccaccttgactcctcc-3’ R 5’-ctccttcctctcctcacatatcc-3’	57	198
Г-3-ФД (*Gapdh*)	F 5’- tttgaagacgccagggaaatg-3’ R 5’- tgtccagaatcaaccaccaag-3’	63	242
β	F 5’-cggaaccgctcattgcc-3’ R 5’-acccacactgtgcccatcta-3’	61	285
ТПГ-1 *(Tph1)*	F 5’-gcttcaaagacaatgtctatcgtagaag-3’ R5’-gcgtgggtcgggtagagtttgttt-3’	60	164 (без интрона) 315 (с интроном)

2.5. Статистическая обработка

Все данные представлены как M±m и проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим множественным сравнением по Фишеру. Для оценки результатов, полученных в водном лабиринте Морриса, использовали дисперсионный анализ «repeated measures» ANOVA. Число животных-каталептиков представляли как процентное отношение от общего числа животных в каждой экспериментальной группе и сравнивали с помощью двухстороннего точного критерия Фишера.

Глава 3. Результаты исследования

3.1. Поведенческие ответы на центральное введение GDNF.

3.1.1. Влияние GDNF на поведение мышей линии CBA.

В тесте на щипковую каталепсию мыши контрольной группы линии CBA продемонстрировали стойкую реакцию замирания в 100% случаев. Под влиянием однократного центрального введения GDNF число каталептиков снизилось лишь до 80 % (Рис. 2А). Однако продолжительность замирания значительно снизилась под влиянием GDNF ($F_{1.19} = 4.65$, $p < 0.05$, рис. 2Б).

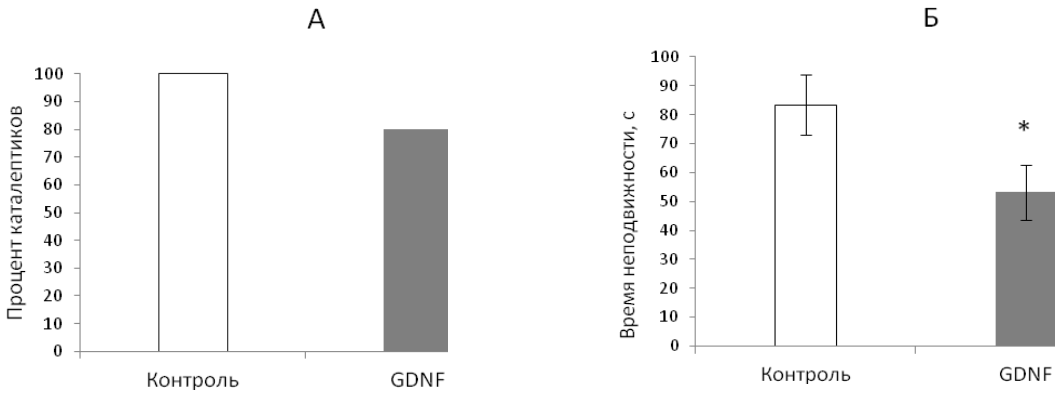


Рис.2. Влияние GDNF на поведение мышей линии CBA в тесте на каталепсию. А – процент животных-каталептиков, Б – время неподвижности.
*n=10-11; * p < 0.05.*

В тесте «открытое поле» у мышей линии CBA под влиянием GDNF заметно возросло время пребывания в центре арены, выраженное в процентах от общего времени теста ($F_{1.19} = 8.30$, $p < 0.01$). Введение GDNF не оказало влияния на двигательную активность (пройденный путь) ($F_{1.19} = 3.61$, $p > 0.05$) исследовательскую активность (количество стоек) ($F_{1.19} = 2.28$, $p > 0.05$) и тревожность (количество умываний) ($F_{1.19} = 3.08$, $p > 0.05$, таблица 2).

Центральное введение GDNF мышам линии CBA не повлияло на число заходов ($F_{1.19} = 0.17$, $p > 0.05$) и время нахождения ($F_{1.19} = 0.0007$, $p > 0.05$) в открытых рукавах в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Число заходов в закрытые рукава возросло под влиянием GDNF ($F_{1.19} = 4.50$, $p < 0.05$), тогда как время нахождения не изменилось ($F_{1.19} = 0.07$, $p > 0.05$). Число

выглядываний из закрытых рукавов ($F_{1.19}$ = 1.56, p > 0.05) и число заглядываний вниз ($F_{1.19}$ = 1.6, p > 0.05) мышами опытной группы также не отличалось от контрольной группы (таблица 3).

Таблица 2. Влияние GDNF на поведение мышей линии CBA в тесте «открытое поле».

Показатель	Контроль (n=10)	GDNF (n=10)
Пройденный путь, см	621.3 ± 65.3	782.7 ± 52.6
Время в центре арены, %	7.4 ± 2.1	15.4 ± 1.8 **
Число вертикальных стоек	8.1 ± 2.3	12.7 ± 1.9
Число актов умывания	1.7 ± 0.3	2.6 ± 0.4
Продолжительность умываний, с	6.5 ± 0.8	8.7 ± 2.3

***p < 0.01.*

Таблица 3. Влияние GDNF на поведение мышей CBA в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

Показатель	Контроль (n=11)	GDNF (n=10)
Число заходов в открытые рукава	1.5 ± 0.7	1.9 ± 0.4
Время в открытых рукавах, с	34.3 ± 15.7	35.1 ± 23.6
Число заходов в закрытые рукава	3.7 ± 0.6	6.3 ± 1.1*
Время в закрытых рукавах, с	213.6 ± 22.2	221.8 ± 20.4
Число выглядываний из закрытых рукавов	10.3 ± 1.1	12.5 ± 1.5
Число заглядываний вниз	5.5 ± 1.6	8.2 ± 1.5

**p < 0.05 по сравнению с группой «Контроль».*

В тесте «свет-темнота» не было обнаружено различий между опытными и контрольными мышами в таких параметрах как латентное время захода в темный отсек ($F_{1.20} = 0.49$, $p > 0.05$), время нахождения в темном отсеке ($F_{1.20} = 3.6$, $p > 0.05$), число заходов в темный отсек ($F_{1.20} = 1.14$, $p > 0.05$) и число выглядываний в светлый отсек ($F_{1.20} = 3.5$, $p > 0.05$, таблица 4).

Таблица 4. Влияние GDNF на поведение мышей CBA в тесте «свет-темнота».

Показатель	Контроль (n=11)	GDNF (n=11)
Латентное время захода в темный отсек, с	113.5 ± 22.7	138.3 ± 27.4
Число заходов в темный отсек	5.9 ± 0.8	4.5 ± 1.1
Время в темном отсеке, с	138.3 ± 19.8	83.2 ± 21.5
Число выглядываний в светлый отсек	5.2 ± 1.5	2 ± 0.7

В тесте «подвешивание за хвост» под влиянием GDNF мыши линии CBA продемонстрировали большие значения времени неподвижности ($F_{1.19} = 10.1$, $p < 0.01$) и меньшие значения латентного времени замирания ($F_{1.19} = 5.9$, $p < 0.05$) по сравнению с контрольными мышами (Рис. 3).

В тесте принудительного плавания параметр, характеризующий «депрессивность» – время неподвижности – не различался у мышей опытной и контрольной групп ($F_{1.19} = 3.35$, $p > 0.05$, рис. 4).

В тесте «закапывание шариков» существенного влияния эффекта GDNF на число закопанных шариков мышами линии CBA обнаружено не было ($F_{1.18} = 0.13$, $p > 0.05$, рис. 5).

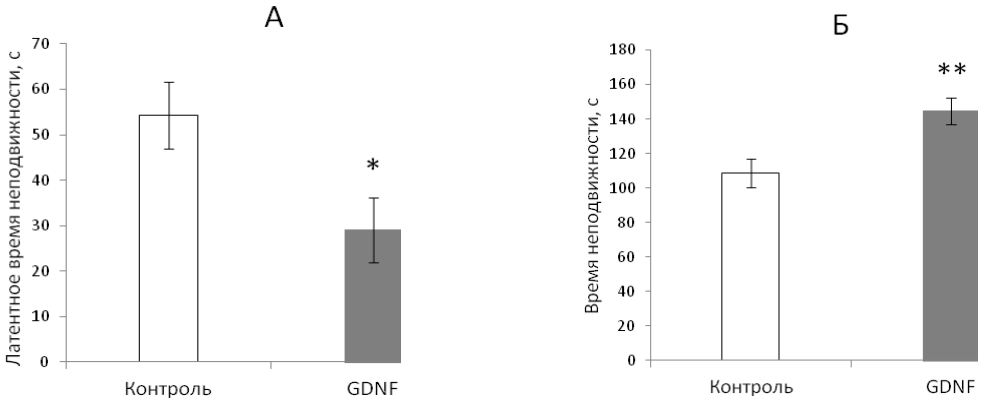


Рис.3. Влияние GDNF на поведение мышей линии CBA в тесте «подвешивание за хвост». А – латентное время неподвижности, Б – время неподвижности.
*n=10-11; * p < 0.05 , ** p < 0.01.*

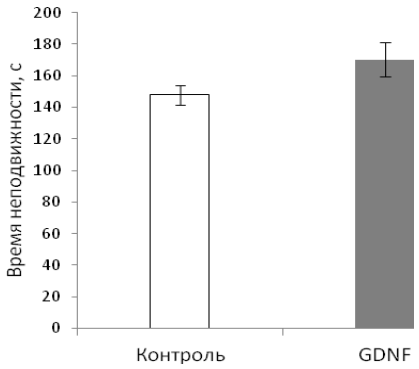


Рис.4. Влияние GDNF на время неподвижности (с) в тесте принудительного плавания у мышей CBA.
n =10-11.

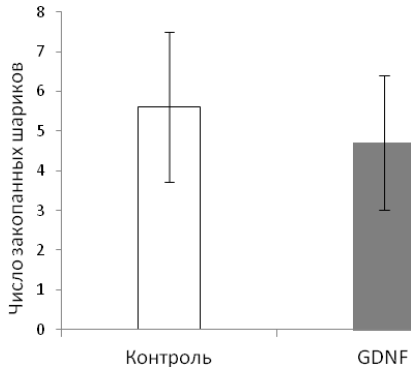


Рис.5. Влияние GDNF на число закопанных шариков мышами линии CBA в тесте «закапывание шариков». *В обеих группах n = 10.*

В водном лабиринте Морриса было выявлено влияние дня обучения на пройденный путь ($F_{3.48}$ = 20.68, p < 0.001) и на латентное время достижения платформы ($F_{3.48}$ = 16.18, p < 0.001). Обнаружено сокращение латентного времени (p < 0.001 для группы «Контроль» и p < 0.001 для группы «GDNF») и пройденного пути (p < 0.001 для группы «Контроль» и p < 0.001 для группы «GDNF») на четвертый день по сравнению с первым (Рис. 6). Однако GDNF не улучшил показатели обучаемости у мышей линии CBA.

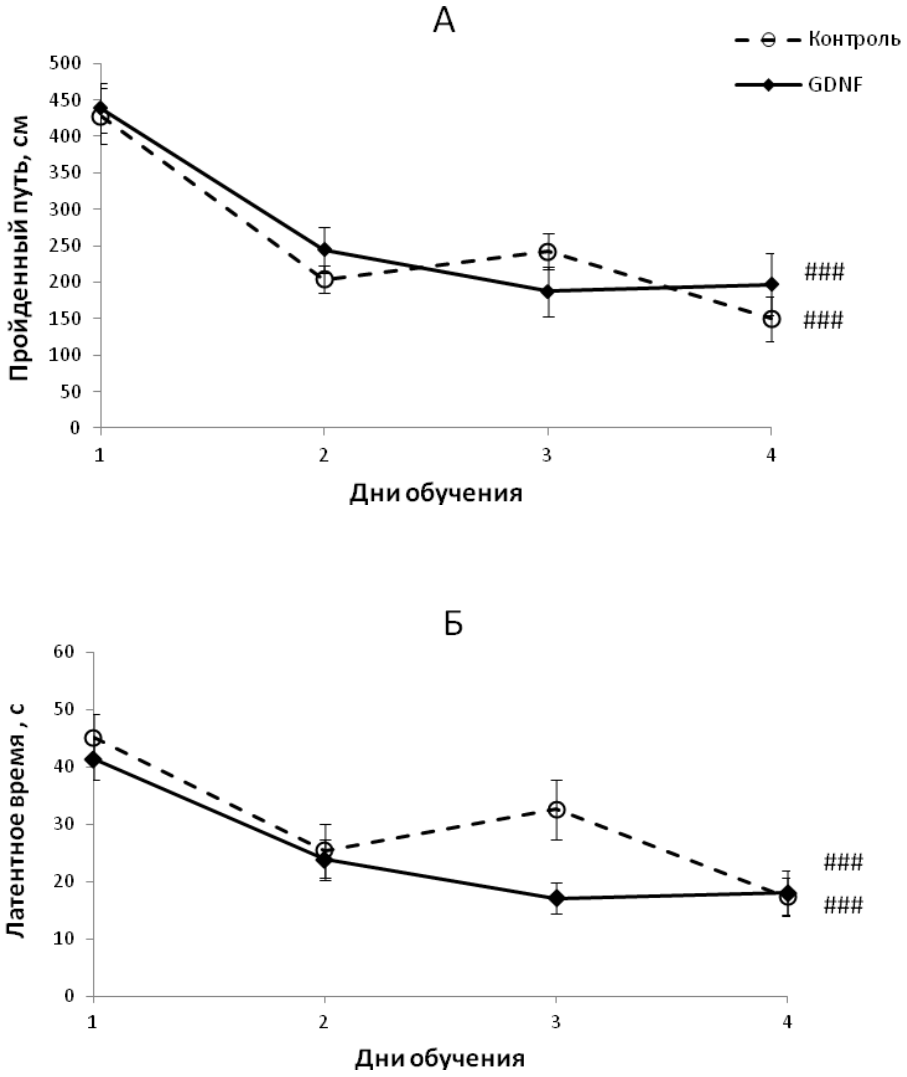


Рис.6. Эффект однократного введения GDNF на поведение мышей CBA в тесте Морриса. А – пройденный путь (см), Б – латентное время достижения платформы (с).

n=8-10; ### p < 0,001 по сравнению с 1 днем испытаний для той же группы.

Таким образом, у мышей линии CBA однократное введение GDNF снизило среднее время каталептического замирания, не влияя на процент каталептиков. GDNF не повлиял на показатели тревожного поведения в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» и «свет-темнота», однако оказал анксиолитический эффект на мышей в тесте «открытое поле». GDNF не оказал антидепрессантного эффекта на мышей CBA, а наоборот, увеличил время неподвижности в тесте «подвешивание за хвост». Не было обнаружено влияния GDNF на показатели обучения в тесте Морриса и на обсессивно-компульсивное поведение в тесте «закапывание шариков» у мышей CBA.

3.1.2. Влияние GDNF на поведение мышей линии ASC

Контрольные мыши линии ASC продемонстрировали стойкую реакцию замирания в 100% случаев. Однократное внутрижелудочковое введение GDNF привело к сокращению числа мышей-каталептиков до 44% (Рис. 7А). Продолжительность замирания снизилась значительно под влиянием GDNF ($F_{1.15}$ = 5.28, $p < 0.05$, рис. 7Б).

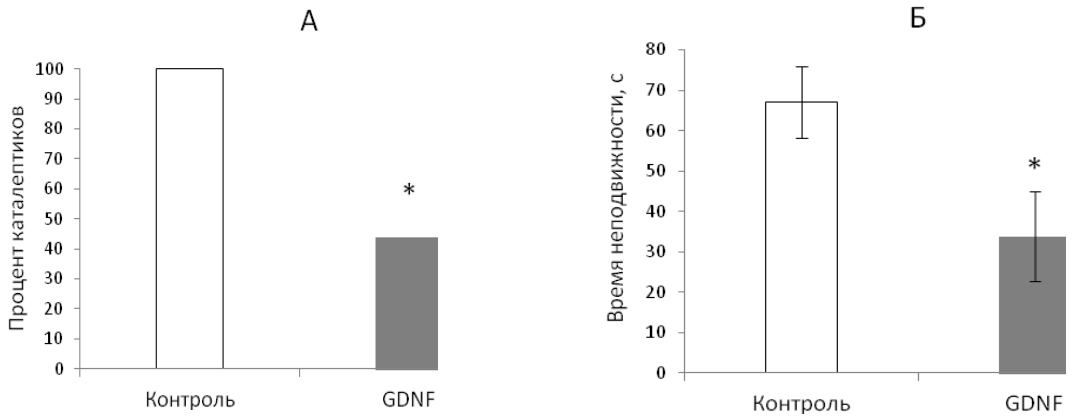


Рис.7. Влияние GDNF на поведение мышей линии ASC в тесте на каталепсию.
А – процент животных-каталептиков, Б – время неподвижности (с).
*n =8-9; * p < 0.05.*

В тесте «открытое поле» значительно увеличилась длина пройденного пути у мышей ASC под влиянием GDNF ($F_{1.\ 15}$ = 4.81, p = 0.04). Такие параметры, как время, проведенное в центре арены ($F_{1.\ 15}$ = 2.62, $p > 0.05$), число вертикальных стоек ($F_{1.\ 15}$ = 2.43, $p > 0.05$), число ($F_{1.\ 15}$ = 0.79, $p > 0.05$) и продолжительность ($F_{1.}$

$_{15}$ = 0.05, $p > 0.05$) актов умывания у мышей опытной и контрольной группы не различались (таблица 5).

Таблица 5. Влияние GDNF на поведение мышей ASC в тесте «открытое поле».

Показатель	Контроль (n=8)	GDNF (n=9)
Пройденный путь, см	409.0 ± 84.8	629.1 ± 57.4*
Время в центре арены, %	3.66 ± 1.48	8.76 ± 2.66
Число вертикальных стоек	2.25 ± 1.84	5.56 ± 1.16
Число актов умывания	1.86 ± 0.58	2.56 ± 0.50
Продолжительность умываний, с	4.02 ± 1.94	3.59 ± 0.41

*$p < 0.05$.

В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» у мышей под влиянием GDNF значительно увеличилось число заходов в открытые рукава ($F_{1.\ 14} = 19.5$, $p < 0.001$), время, проведенное в открытых рукавах ($F_{1.\ 14} = 10.23$, $p < 0.01$) и число заглядываний вниз ($F_{1.\ 14} = 15.41$, $p < 0.01$). В то же время под влиянием GDNF сократилось время, проведенное мышами в закрытых рукавах ($F_{1.\ 14} = 5.90$, $p < 0.05$). Не было обнаружено различий между мышами двух групп в таких параметрах как число заходов в закрытые рукава ($F_{1.\ 14} = 2.07$, $p > 0.05$) и число выглядываний из закрытых рукавов ($F_{1.\ 14} < 1$, $p > 0.05$, таблица 6).

В тесте «свет-темнота», используемом для оценки уровня тревожности грызунов, под влиянием введения GDNF значительно сократилось время нахождения мышей линии ASC в темном отсеке ($F_{1.19} = 5.74$, $p < 0.05$). Тогда как различий между опытными и контрольными мышами в таких параметрах как латентное время захода в темный отсек ($F_{1.\ 19} = 3.99$, $p > 0.05$), число заходов в темный отсек ($F_{1.\ 19} = 0.01$, $p > 0.05$) и число выглядываний в светлый отсек ($F_{1.\ 19} = 1.58$, $p > 0.05$) обнаружено не было (таблица 7).

Таблица 6. Влияние GDNF на поведение мышей линии ASC в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

Показатель	Контроль (n=8)	GDNF (n=8)
Число заходов в открытые рукава	0.6 ± 0.3	3.4 ± 0.6***
Время в открытых рукавах, с	6.9 ± 3.8	27.5 ± 5.2**
Число заходов в закрытые рукава	3.1 ± 0.7	5.3 ± 1.3
Время в закрытых рукавах, с	276.2 ± 6.8	246.6 ± 10.1*
Число выглядываний из закрытых рукавов	9.3 ± 2.0	9.3 ± 1.0
Число заглядываний вниз	3.3 ± 1.3	11.9 ± 1.8**

$*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$.

Таблица 7. Влияние GDNF на поведение мышей ASC в тесте «свет-темнота».

Показатель	Контроль (n=10)	GDNF (n=11)
Латентное время захода в темный отсек, с	36.0 ± 8.2	74.6 ± 16.8
Число заходов в темный отсек	5.0 ± 0.5	5.1 ± 0.9
Время в темном отсеке, с	226.0 ± 12.8	160.0 ± 23.5*
Число выглядываний в светлый отсек	4.5 ± 0.7	6.6 ± 1.5

$*p < 0.05$.

В тесте на депрессивноподобное поведение – «подвешивание за хвост», GDNF не оказал влияния на латентное время неподвижности ($F_{1.14} = 0.65$, $p > 0.05$, рис. 8А) и на общее время неподвижности ($F_{1.14} = 0.80$, $p > 0.05$, рис. 8Б).

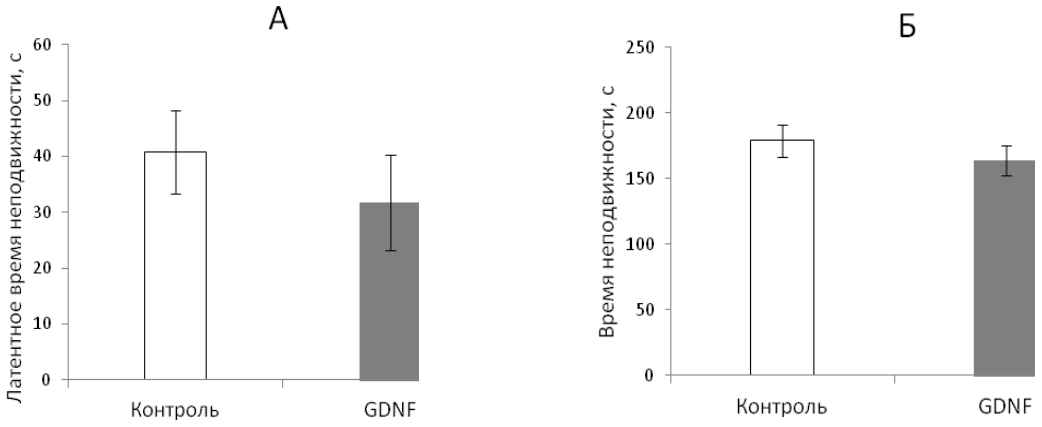


Рис.8. Влияние GDNF на поведение мышей линии ASC в тесте «подвешивание за хвост». А – латентное время неподвижности (с), Б – время неподвижности (с).
В обеих группах n = 8.

Тест принудительного плавания является наиболее распространенным тестом для оценки «депрессивности» грызунов. Однократное введение GDNF привело к увеличению времени неподвижности у мышей линии ASC по сравнению с мышами контрольной группы ($F_{1.19} = 5.78$, $p < 0.05$, рис. 9).

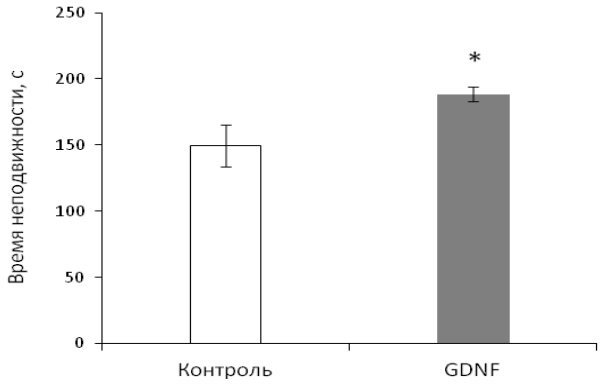


Рис.9. Влияние GDNF на время неподвижности (с) в тесте принудительного плавания у мышей ASC.
*n = 10-11; * p < 0.05.*

В тесте «закапывание шариков» мыши линии ASC под влиянием однократного введения GDNF закапывали значительно больше шариков. В экспериментальной группе среднее число закопанных шариков составило 11.5 ± 0.9, тогда как в контрольной группе среднее значение этого параметра было 2.0 ± 0.7 ($F_{1.18} = 74.862$, $p < 0.001$, рис. 10).

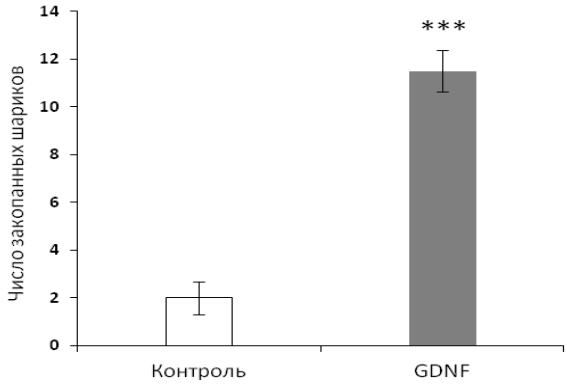


Рис.10. Влияние GDNF на число закопанных шариков мышами линии ASC в тесте «закапывание шариков».
*В обеих группах n = 10; *** p < 0.001.*

GDNF повлиял на динамику обучения мышей линии ASC в водном тесте Морриса. Была выявлена значимость различий по фактору «день обучения» для пройденного пути ($F_{3.51}$ = 10.69, p < 0.001) и для латентного времени достижения платформы ($F_{3.51}$ = 12.51, p < 0.001) и по фактору «GDNF» для пройденного пути ($F_{1.17}$ = 4.44, p = 0.05) и для латентного времени ($F_{1.17}$ = 8.45, p < 0.01). Было обнаружено сокращение латентного времени (p < 0.01 для группы «Контроль» и p < 0.001 для группы «GDNF») и пройденного пути (p < 0.01 для группы «Контроль» и p < 0.001 для группы «GDNF») на четвертый день по сравнению с первым (Рис. 11А, Б). В то же время мыши группы «GDNF» демонстрировали сокращенное латентное время по сравнению с соответствующим контролем (p < 0.05) на четвертый день (Рис. 11Б). Сокращение пройденного пути у мышей линии ASC, подвергавшихся введению GDNF, по сравнению с группой «Контроль» наблюдалось на уровне тенденции (p = 0.06, рис. 11А).

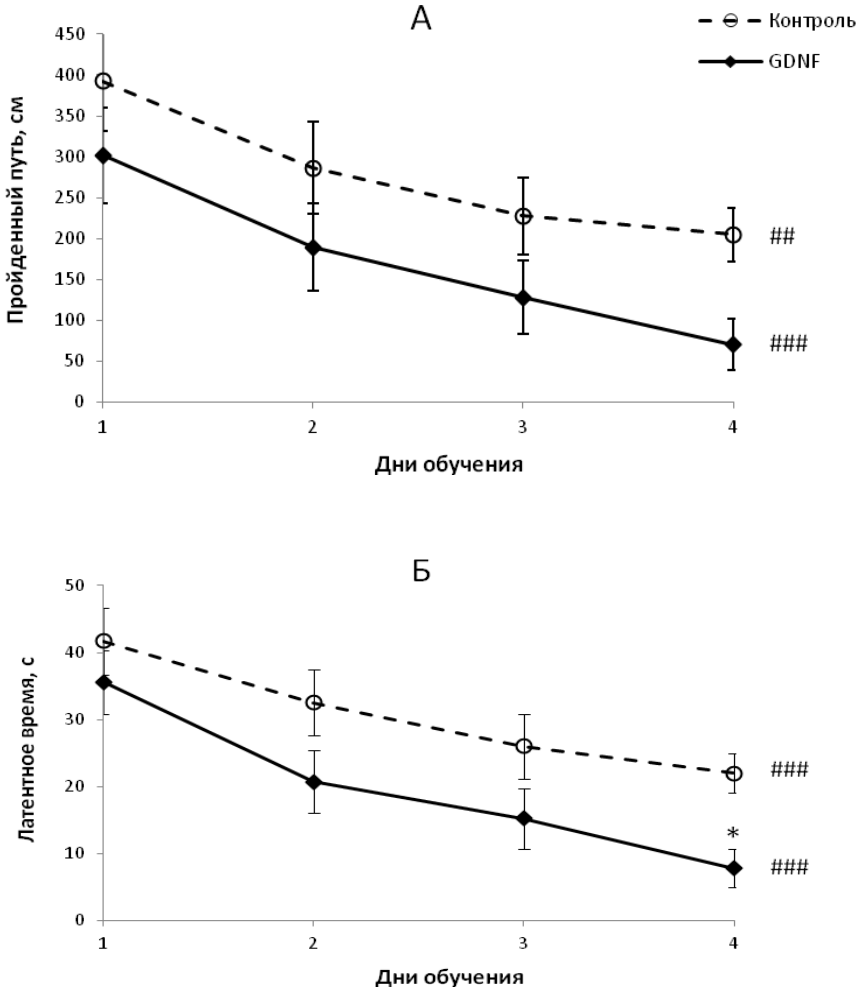


Рис.11. Эффект однократного введения GDNF на поведение мышей ASC в тесте Морриса. А – пройденный путь (см), Б – латентное время достижения платформы (с).
*n = 9-11; ## p < 0.01, ### p < 0.001 по сравнению с 1 днем испытаний для той же группы, *p < 0.05 по сравнению с группой «Контроль».*

Таким образом, однократное центральное введение GDNF оказало выраженное антикаталептическое и анксиолитическое (тест «приподнятый крестообразный лабиринт» и «свет-темнота») влияние на мышей ASC. В то же время GDNF произвел продепрессивный эффект на мышей ASC, поскольку значительно увеличил время неподвижности в тесте принудительного плавания. GDNF стимулировал обсессивно-компульсивное поведение мышей, наблюдаемое в тесте «закапывание шариков». Примечательно то, что в тесте Морриса GDNF улучшил динамику обучения мышей ASC.

3.1.3. Сравнение эффекта GDNF на поведение мышей линий CBA и ASC.

Однократное центральное введение GDNF значительно повлияло на поведение мышей обеих линий в тесте на каталепсию. Введение GDNF привело к снижению процента мышей-каталептиков среди линии ASC ($p < 0.05$; рис. 1А, приложение) и к значительному снижению времени неподвижности у мышей обеих линий ($p < 0.05$, рис. 1Б, приложение).

Введение GDNF значительно повлияло на выраженность депрессивноподобного поведения у мышей двух линий. В тесте «подвешивание за хвост» GDNF достоверно увеличивал время неподвижности у мышей CBA ($p < 0.01$; рис. 2, приложение). В тесте принудительного плавания GDNF увеличивал время замирания мышей линии ASC по сравнению с мышами контрольной группы ($p < 0.05$, рис. 3, приложение).

В тесте «открытое поле» GDNF значительно повлиял на поведение мышей исследуемых линий (таблица 1, приложение). Величина пройденного пути у мышей линии ASC значительно возросла в результате введения GDNF ($p < 0.05$). Влияние GDNF на пройденный путь у мышей CBA оказалось незначительным ($p = 0.07$), однако GDNF достоверно увеличил время нахождения в центре арены ($p < 0.01$).

В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» GDNF в большей мере повлиял на поведение мышей линии ASC: увеличил число заходов в открытые рукава ($p < 0.001$), время, проведенное в открытых рукавах ($p < 0.01$) и число заглядываний вниз ($p < 0.01$), а также снизил время, проведенное в закрытых рукавах ($p < 0.05$). Данные изменения в показателях указывают на анксиолитическое действие GDNF на мышей линии ASC. У мышей линии CBA GDNF увеличил число заходов в закрытые рукава ($p < 0.05$), но не смог повлиять на другие параметры (таблица 2, приложение).

GDNF повлиял на поведение мышей линии ASC в тесте «свет-темнота» (таблица 3, приложение). Введение GDNF значительно снизило время пребывания в темном отсеке мышей линии ASC ($p < 0.05$). У мышей линии CBA снижение времени пребывания в темном отсеке было выявлено на уровне тенденции ($p = 0.06$).

Центральное введение GDNF произвело эффект на выраженность обсессивно-компульсивного поведения у мышей линии ASC, характеризующихся депрессивноподобным поведением, но не имело эффекта на «недепрессивную» линию CBA. Под влиянием GDNF мыши линии ASC закапывали значительно большее количество шариков, чем мыши контрольной группы ($p < 0.001$). В то же время GDNF не повлиял на выраженность обсессивно-компульсивного поведения у мышей линии CBA ($p > 0.05$, рис. 4, приложение).

Таким образом, изменения в поведении, обусловленные введением GDNF, наблюдались главным образом у мышей линии ASC (таблица 8). Так, у мышей ASC на фоне GDNF наблюдалось повышение уровня двигательной активности и снижение уровня тревожности. Тогда как GDNF не повлиял на поведение мышей CBA в тесте Морриса и «закапывание шариков», мыши ASC под влиянием GDNF демонстрировали улучшение показателей обучения и усиление выраженности обсессивно-компульсивного поведения. У мышей обеих линий введение GDNF привело к снижению выраженности щипковой каталепсии (однако процент каталептиков GDNF снизил лишь у мышей линии ASC), и к усугублению депрессивноподобного поведения (у мышей CBA в тесте «подвешивание за хвост», у ASC в тесте принудительного плавания).

Таблица 8. Влияние GDNF на характеристики поведения мышей линий CBA и ASC.

	Каталепсия	Двигательная активность	Тревожность	Депрессивноподобное поведение	Обсессивно-компульсивное поведение	Обучение
CBA	↓	↑̸	↓̸	↑	=	=
ASC	↓	↑	↓	↑	↑	↑

↓ - ослабление выраженности характеристики поведения, ↑ - усиление выраженности характеристики поведения, = поведение не изменилось, ↓ и ↑ - ослабление и усиление характеристики поведения на уровне тенденции.

3.2. Функциональная активность 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов в мозге мышей в результате введения GDNF

Введение GDNF не произвело значительных изменений в функциональной активности как 5-HT_{1A} рецепторов, оцениваемой по снижению температуры тела в ответ на активацию рецепторов специфичным агонистом 8-OH-DPAT ($F_{1.14} = 0.89$, $p > 0.05$, рис. 12А), так и 5-HT_{2A} рецепторов, оцениваемой по количеству встряхиваний головой в ответ на введение специфичного агониста рецепторов DOI ($F_{1.14} = 0.63$, $p > 0.05$, рис. 12Б), у мышей ASC. GDNF так же не привел к изменениям функциональной активности 5-HT_{1A} ($F_{1.19} = 0.27$, $p > 0.05$, рис. 12А) и 5-HT_{2A} ($F_{1.18} = 1.28$, $p > 0.05$, рис. 12Б) рецепторов у мышей линии CBA.

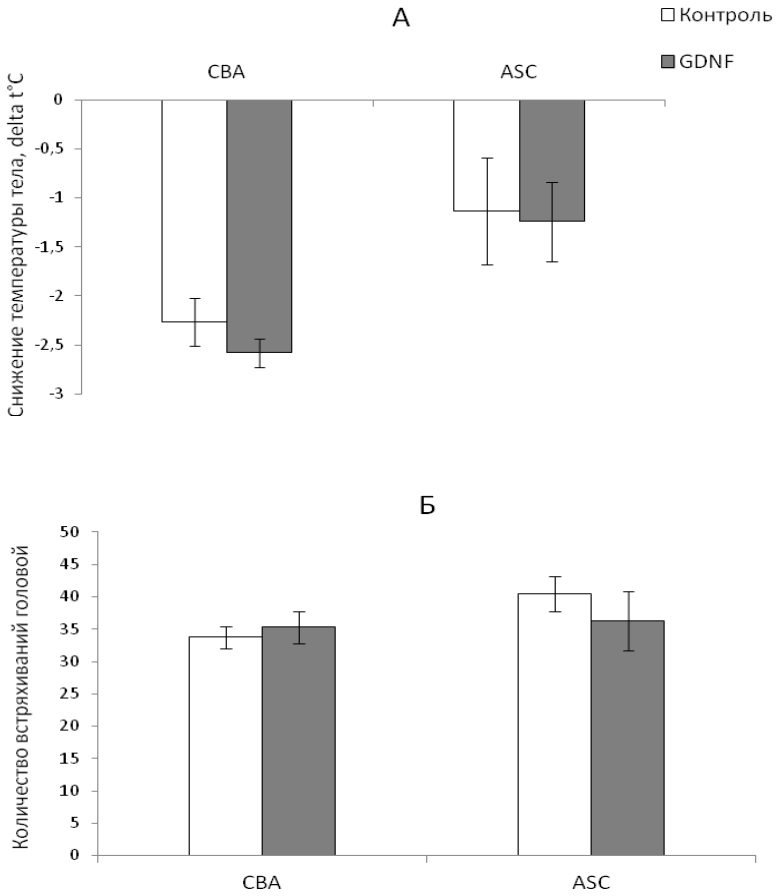


Рис.12. Влияние GDNF на функциональную активность 5-HT_{1A} рецепторов (А) и 5-HT_{2A} рецепторов (Б) у мышей CBA и ASC.
n = 6-11.

Таким образом, GDNF не повлиял на функциональную активность 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов при активации соответствующих рецепторов в мозге мышей обеих исследуемых линий.

3.3. Влияние GDNF на экспрессию ключевых генов серотониновой системы в мозге мышей CBA и ASC.

Введение GDNF не вызвало изменений в экспрессии генов, кодирующих 5-HT_{1A} рецептор ($F_{1.18}$ = 0.01, p > 0.05 в среднем мозге, $F_{1.18}$ = 1.79, p > 0.05 в гиппокампе, $F_{1.18}$ = 0.67, p > 0.05 во фронтальной коре, рис. 13А) и 5-HT_{2A} рецептор ($F_{1.18}$ = 0.16, p > 0.05 в среднем мозге, $F_{1.19}$ = 1.81, p > 0.05 в гиппокампе, $F_{1.18}$ = 0.05, p > 0.05 во фронтальной коре, рис. 13Б) у мышей CBA.

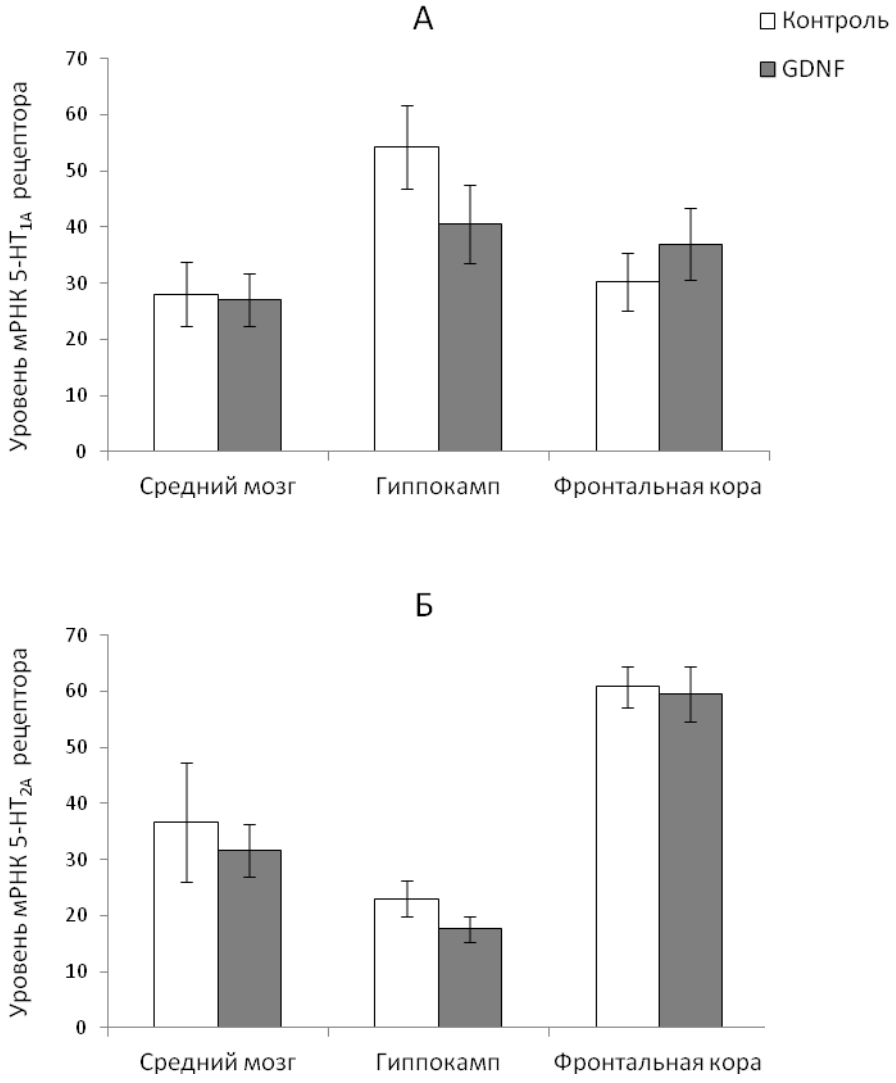


Рис.13. Влияние GDNF на уровень мРНК 5-HT_{1A} рецепторов (А) и 5-HT_{2A} рецепторов (Б) в мозге мышей линии CBA.
n = 9-11.

Введение GDNF не оказало влияния на экспрессию генов, кодирующих ТПГ-2 ($F_{1.18} = 0.16$, $p > 0.05$, рис. 14А) и 5-HTT ($F_{1.19} = 0.04$, $p > 0.05$, рис. 14Б) в среднем мозге мышей линии CBA.

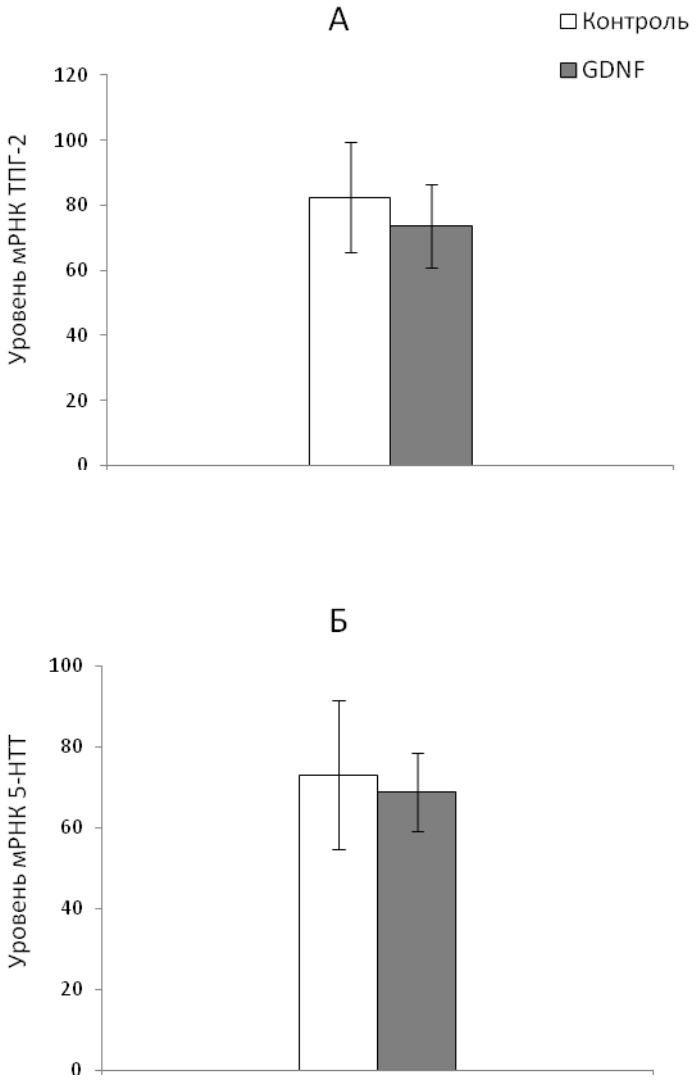
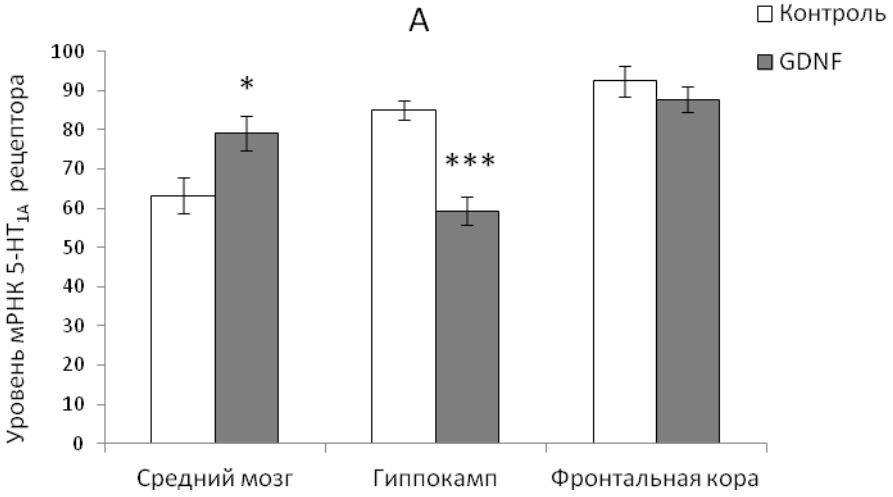


Рис.14. Влияние GDNF на экспрессию гена, кодирующего ТПГ-2 (А) и 5-HTT (Б) в среднем мозге мышей линии CBA.
n = 9-11.

Таким образом, экзогенная доставка GDNF не привела к изменениям в экспрессии ключевых генов 5-HT системы у мышей линии CBA через 3 недели после введения GDNF.

В то же время введение GDNF привело к заметным изменениям в экспрессии ключевых генов серотониновой системы мышей линии ASC. Под влиянием GDNF

возрос уровень мРНК 5-HT_{1A} рецептора в среднем мозге ($F_{1.14}$ = 6.21, $p < 0.05$), но значительно снизился в гиппокампе ($F_{1.12}$ = 35.42, $p < 0.001$, рис. 15А). Введение GDNF не повлияло на уровень мРНК 5-HT_{1A} рецептора во фронтальной коре ($F_{1.12}$ = 0.80, $p > 0.05$, рис. 15А). Экспрессия гена 5-HT_{2A} рецептора не различалась в среднем мозге ($F_{1.14}$ = 0.28, $p > 0.05$) и гиппокампе ($F_{1.13}$ = 2.79, $p > 0.05$) у мышей контрольной и опытной групп (Рис. 15Б). Однако GDNF способствовал заметному увеличению уровня мРНК 5-HT_{2A} рецептора во фронтальной коре ($F_{1.11}$ = 15.73, $p < 0.01$, рис. 15Б).



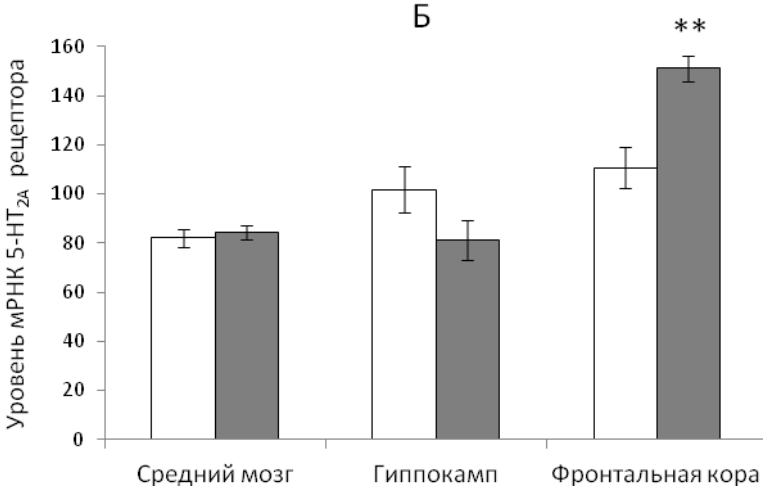


Рис.15. Влияние GDNF на уровень мРНК 5-HT_{1A} рецепторов (А) и 5-HT_{2A} рецепторов (Б) в мозге мышей линии ASC.

*n = 6-8; *p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 по сравнению с мышами соответствующей контрольной группы.*

Экспрессия гена, кодирующего основной фермент биосинтеза серотонина в мозге ТПГ-2, была затронута у мышей, которым вводили GDNF. Так, под влиянием GDNF уровень мРНК ТПГ-2 в среднем мозге возрастал по сравнению с мышами контрольной группы ($F_{1.14}$ = 14.04, p < 0.01, рис. 16А). Однако GDNF не оказал влияния на уровень мРНК транспортера серотонина – 5-HTT ($F_{1.11}$ = 2.41, p > 0.05, рис. 16Б).

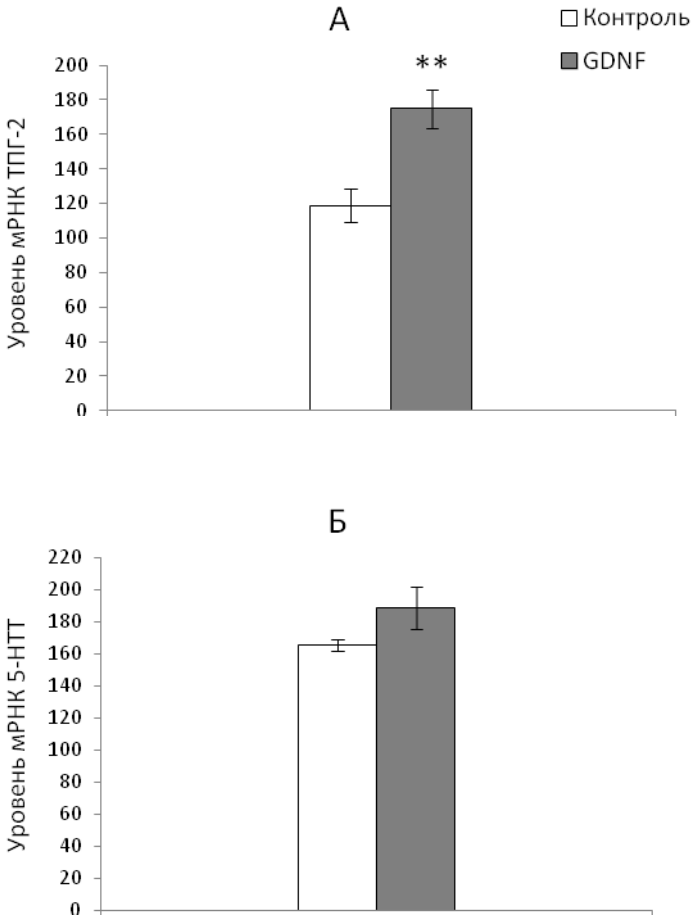


Рис.16. Влияние GDNF на экспрессию гена, кодирующего ТПГ-2 (А) и 5-HTT (Б) в среднем мозге мышей линии ASC.
*n = 6-8; ** p < 0.01.*

Таким образом, однократное введение GDNF привело к повышению экспрессии через 3 недели генов 5-HT_{1A} рецепторов и ТПГ-2 в среднем мозге, увеличению экспрессии гена 5-HT_{2A} рецепторов во фронтальной коре, и снижению экспрессии генов 5-HT_{1A} рецепторов в гиппокампе у мышей линии ASC.

3.3.1. Сравнение эффектов GDNF на экспрессию генов серотониновой системы в мозге мышей CBA и ASC.

Однократное внутрижелудочковое введение GDNF привело к значительным изменениям экспрессии ключевых генов серотониновой системы мозга у мышей линии ASC, но не CBA. У мышей линии ASC под влиянием GDNF уровень мРНК 5-HT_{1A} рецепторов возрос в среднем мозге ($p < 0.05$), но снизился в гиппокампе ($p < 0.001$, рис. 5А, приложение). GDNF значительно увеличил экспрессию 5-HT_{2A} рецепторов во фронтальной коре ($p < 0.01$, рис. 5Б, приложение).

Кроме того, введение GDNF привело к увеличению уровня мРНК основного фермента биосинтеза серотонина ТПГ-2 у мышей линии ASC ($p < 0.01$, рис. 6, приложение). В то же время GDNF не оказал влияния на уровень 5-HTT в среднем мозге мышей обеих линий ($p > 0.05$).

Таким образом, в отличие от линии CBA, генотип линии ASC оказался более восприимчив к воздействию GDNF, что отражается в изменении профиля экспрессии ключевых генов 5-HT системы мозга мышей ASC через 3 недели после введения GDNF.

Глава 4. Обсуждение результатов

В настоящей работе мы исследовали влияние GDNF на поведение мышей двух линий. Линия мышей CBA является генетической моделью каталепсии, поскольку 50 % мышей демонстрируют замирание в ответ на серию щипков в области загривка. При скрещивании мышей каталептической линии CBA и некаталептической линии AKR и отборе на предрасположенность к каталептическому замиранию была получена линия мышей ASC, в которой 70-80 % мышей проявляют стойкую реакцию каталепсии (Базовкина и др., 2005). В ходе селекции у мышей ASC сформировались депрессивноподобные черты поведения: сниженная двигательная и исследовательская активность в тесте «открытое поле»; увеличение времени замирания в тесте «подвешивание за хвост»; снижение половой мотивации по сравнению с родительскими линиями (Базовкина и др., 2005; Тихонова и др., 2010). Также было показано, что у мышей линий ASC и CBA увеличена функциональная активность 5-HT_{1A} рецепторов (Науменко и др., 2006), снижена функциональная активность 5-HT_{2A} рецепторов и снижен уровень мРНК 5-HT_{2A} рецепторов во фронтальной коре по сравнению с некаталептической линией AKR (Naumenko et al., 2010). Кроме того, у мышей ASC и CBA снижены размеры гипофиза по сравнению с некаталептической линией AKR (Tikhonova et al., 2013). В то же время только у мышей линии ASC зафиксировано резкое снижение размеров стриатума и промежуточного мозга, указывая на нейродегенеративные нарушения, закрепленные в мозге мышей в ходе селекции (Tikhonova et al., 2013).

В наших экспериментах однократное внутрижелудочковое введение GDNF оказало значительное и, что важно отметить, генотипзависимое влияние на поведение мышей. Мыши каталептической «депрессивной» линии ASC оказались гораздо более чувствительны к действию GDNF, чем мыши каталептической но «недепрессивной» линии CBA. GDNF снизил выраженность каталепсии, увеличил двигательную активность, сократил уровень тревожности, стимулировал обсессивно-компульсивное поведение и улучшил показатели обучения мышей линии ASC. Возможное объяснение таких поведенческих изменений – в том, что GDNF стимулировал нейрогенез и улучшил метаболизм в областях мозга, которые,

как было упомянуто выше, претерпели структурные изменения в результате селекции (Du et al., 2013; Yuan et al., 2013). Другое объяснение – в воздействии GDNF на 5-HT систему мозга, поскольку в данной работе мы наблюдали изменения в экспрессии ключевых генов 5-HT системы, при этом происходили они именно у той линии, у которой были обнаружены более выраженные изменения в поведении – у линии ASC.

Мы показали, что под влиянием однократного введения GDNF возрос уровень двигательной активности, изначально сниженный у мышей ASC по сравнению с родительскими линиями (Базовкина и др., 2005). У мышей линии CBA наблюдалась тенденция к повышению под действием GDNF уровня двигательной активности в тесте «открытое поле». Повышение двигательной активности согласуется с исследованиями влияния GDNF на поведение как нормальных животных (Hudson et al., 1995; Martin et al., 1996b; Hebert et al., 1996), так и животных с поврежденной моторной функцией (Bowenkamp et al., 1997; Gerhardt et al., 1999; Biju et al., 2010). Практически во всех этих исследованиях повышение двигательной активности животных сопровождается возрастанием уровня дофамина в различных структурах мозга (Hudson et al., 1995; Bowenkamp et al., 1997; Gerhardt et al., 1999; Biju et al., 2010). У исследуемых нами мышей ASC повышение двигательной активности в тесте «открытое поле» в результате однократного введения GDNF сопровождалось увеличением уровня дофамина в стриатуме (Семёнова и др., 2013) и повышением экспрессии генов D1 и D2 дофаминовых рецепторов в прилежащих ядрах (Naumenko et al., 2014).

В настоящей работе мы обнаружили, что введение GDNF значительно снизило выраженность щипковой каталепсии у мышей обеих исследуемых линий, каталептической CBA и каталептической «депрессивной» ASC. Каталепсия – длительная непроизвольная обездвиженность с пластическим тонусом мускулатуры. У человека каталепсия нередко наблюдается при различных нарушениях функционирования головного мозга, посттравматических состояниях, и психических заболеваниях, таких как депрессия и шизофрения (Singerman, Raheja, 1994). Самыми распространенными экспериментальными формами каталепсии являются щипковая каталепсия, вызываемая щипками кожи в области

загривка, и каталепсия, вызванная введением нейролептиков. Предрасположенность к наследственной каталепсии обусловливается генетически детерминированными особенностями медиаторных систем мозга (Попова, 2004). Как было упомянуто ранее, у генетически предрасположенных к щипковой каталепсии мышей линии ASC и CBA наблюдаются значительные изменения в 5-HT системе мозга по сравнению с родительской некаталептической линией AKR (Науменко и др., 2006; Naumenko et al., 2010). Роль GDNF в поддержании функционирования дофаминовой системы мозга является наиболее значимой среди других трофических факторов (Tomac et al., 1995a; Bourque, Trudeau, 2000; Chen et al., 2014). В связи с этим ранее нами был исследован эффект GDNF на уровень дофамина в мозге мышей. Однократное введение GDNF привело к отсроченному повышению уровня дофамина в стриатуме мышей ASC, сопровождающее поведенческие изменения, такие как снижение выраженности каталепсии, повышение двигательной активности и стимулирование обсессивно-компульсивного поведения (Семёнова и др., 2013).

В настоящем исследовании введение GDNF не измененило функциональную активность 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов у мышей обеих исследуемых линий, в то же время GDNF повлиял на 5-HT систему мозга мышей ASC, но не CBA, на уровне экспрессии генов, оцениваемую через 3 недели после введения GDNF. Так, значительно возросла экспрессия гена 5-HT_{2A} рецептора во фронтальной коре, что может объяснить антикаталептический эффект GDNF, поскольку у мышей ASC снижена экспрессия гена 5-HT_{2A} рецептора во фронтальной коре по сравнению с мышами некаталептической линии AKR (Naumenko et al., 2010).

В наших исследованиях введение GDNF привело к снижению уровня тревожности мышей ASC в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» и «свет-темнота». GDNF оказал анксиолитическое влияние на мышей CBA лишь в тесте «открытое поле», и на уровне тенденции в тесте «свет-темнота». Изменения в экспрессии изучаемых нами генов могут лежать в основе антитревожных эффектов GDNF, поскольку серотониновая система вовлечена в механизмы тревожности. Так, немаловажное значение в регуляции психики и поведения имеют 5-HT_{1A} рецепторы, причем функционирование пресинаптических и постсинаптических

рецепторов приводит к противоположным эффектам (Albert, 2012). Пресинаптические 5-HT_{1A} рецепторы, расположенные на телах и дендритах 5-HT нейронов в ядрах шва среднего мозга (ауторецепторы), сокращают передачу серотонина в клетку-мишень (Zifa, Fillion, 1992). Активация данных ауторецепторов оказала анксиолитическое влияние на поведение животных (Hogg et al., 1994; Koprowska et al., 2002; Shields, King, 2008), тогда как специфическое подавление экспрессии 5-HT_{1A} ауторецепторов повысило показатели тревожного поведения в тестах «открытое поле» и «свет-темнота» (Richardson-Jones et al., 2011). Однако было показано, что влияние ауторецепторов на показатели тревожного поведения мышей не осуществляется без участия постсинаптических 5-HT_{1A} рецепторов (Piszczek et al., 2013). Найденное нами повышение экспрессии мРНК 5-HT_{1A} рецепторов в среднем мозге согласуется с антитревожным влиянием GDNF на мышей ASC.

В то же время GDNF значительно снизил уровни экспрессии гена 5-HT_{1A} рецепторов в гиппокампе у мышей ASC. Показана роль постсинаптических 5-HT_{1A} рецепторов (гетерорецепторов), расположенных в гиппокампе, префронтальной коре и миндалине, в депрессивноподобном поведении (Garcia-Garcia et al., 2014). Так, введение селективного активатора постсинаптических 5-HT_{1A} рецепторов снизило длительность замирания крыс в тесте принудительного плавания (Assie et al., 2010), тогда как подавление экспрессии 5-HT_{1A} гетерорецепторов привело к увеличению времени неподвижности мышей в данном тесте (Richardson-Jones et al., 2011). В наших экспериментах, введение GDNF не привело к облегчению депрессивноподобного поведения, а наоборот, мыши ASC замирали значительно дольше в тесте принудительного плавания, а мыши CBA – в тесте «подвешивание за хвост». При этом уровень мРНК 5-HT_{1A} рецепторов в гиппокампе мышей ASC достоверно снижался. Напротив, однократное введение BDNF вызвало облегчение депрессивноподобного поведения у мышей ASC, сопровождаемое повышением экспрессии генов 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов в гиппокампе (Naumenko et al., 2012). Сравнивая эффекты GDNF и BDNF, можно предположить, что дисфункция 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов в гиппокампе представляет потенциальный механизм развития депрессии.

С помощью ПЭТ был оценен вклад ключевых элементов 5-HT системы мозга в патофизиологию депрессии. Так, исследователями (Drevets et al., 2007; Hirvonen et al., 2008; Savitz et al., 2009; Lothe et al., 2012) была выявлена в основном сниженная плотность 5-HT_{1A} рецепторов в корковых и лимбических областях мозга у пациентов с депрессивными расстройствами. Эти данные находятся в согласии с найденной нами сниженной экспрессией мРНК гена 5-HT_{1A} рецепторов в гиппокампе мышей ASC после введения GDNF и усугублением депрессивноподобного поведения. Кроме того, мы выявили повышенную экспрессию гена 5-HT_{1A} рецептора в среднем мозге, что согласуется с повышенной плотностью 5-HT_{1A} рецепторов в ядрах шва среднего мозга депрессивных больных (Miller et al., 2009; Kaufman et al., 2015). Было показано, что лечение антидепрессантами ряда СИОЗС сокращает плотность 5-HT_{1A} ауторецепторов (Gray et al., 2013) и наоборот увеличивает связывание 5-HT_{1A} гетерорецепторов (Lothe et al., 2012).

Мы показали, что экспрессия гена 5-HT_{2A} рецептора во фронтальной коре мышей ASC была повышена в результате введения GDNF. Данные по плотности 5-HT_{2A} рецепторов в корковых областях мозга депрессивных больных довольно противоречивы. Так, у пациентов с депрессией, не принимающих лекарств, плотность 5-HT_{2A} рецепторов в коре снижена по сравнению с плотностью данных рецепторов у здоровых людей и пациентов, подвергающихся антидепрессантному лечению (Messa et al., 2003). По данным других исследователей (Meyer et al., 2003) плотность 5-HT_{2A} рецепторов в коре повышена у депрессивных больных. И наконец, третья группа исследователей показала, что связывание 5-HT_{2A} рецепторов в коре депрессивных больных не отличалось от такового у здоровых субъектов (Beaken et al., 2012). При этом у пациентов с депрессией, принимавших антидепрессанты (Zanardi et al., 2001) или в стадии стойкой ремиссии (Bhagwagar et al., 2006) в корковых областях мозга найдено повышение плотности 5-HT_{2A} рецепторов по сравнению со здоровыми субъектами. Однако в постсмертных исследованиях префронтальной коры больных с депрессией изменений в экспрессии и плотности 5-HT_{2A} рецепторов не выявлено, в то время как лечение антидепрессантами снизило плотность 5-HT_{2A} рецепторов (Muguruza et al., 2014).

Показано, что хронический непредсказуемый стресс индуцировал активацию астроцитов и повышение уровня мРНК и белка GDNF в гиппокампе животных (Bian et al., 2012; Jiang et al., 2014). При этом стресс-индуцированные изменения сохранялись после 40-дневного периода восстановления, указывая на роль GDNF в адаптивном ответе на стрессовые воздействия (Bian et al., 2012). В то же время показано, что активация постсинаптических 5-HT_{1A} рецепторов может улучшать адаптацию к стрессу (Zhou et al., 2014). Можно полагать, что запускаемые GDNF сигнальные каскады индуцируют изменения функциональной активности 5-HT системы мозга, что приводит к коррекции патологического поведения.

Фермент ТПГ-2 является основным маркером функциональной активности 5-HT системы мозга (Walther et al., 2003; Popova, Kulikov et al., 2010). Мыши с делецией гена кодирующего ТПГ-2 не имеют центрального серотонина, и характеризуются выраженным обсессивно-компульсивным поведением, повышенной импульсивностью и агрессивностью (Savelieva et al., 2008; Angoa-Perez et al., 2012; Gutknecht et al., 2015). Однако, несмотря на тотальную потерю серотонина у таких мышей сохраняются морфологические и анатомические характеристики 5-HT клеток в ядрах шва (Gutknecht et al., 2008). Мы показали, что GDNF повысил экспрессию гена ТПГ-2 в среднем мозге мышей линии ASC. При этом способность GDNF усиливать депрессивноподобное поведение мышей ASC согласуется с данными о повышении экспрессии гена ТПГ-2 (Bach-Mizrachi et al., 2006) и количества этого фермента (Boldrini et al., 2005) в ядрах шва среднего мозга больных, страдающих депрессивными заболеваниями. Напротив, антидепрессанты из группы СИОЗС, хронические вводимые крысам, стимулировали сокращение количества ТПГ-иммунореактивных клеток в ядрах шва среднего мозга (MacGillivray et al, 2010).

Нужно отметить, что во влиянии GDNF и BDNF на поведение и 5-HT систему мозга исследуемых мышей есть сходные моменты. Оба фактора снизили выраженность каталептического замирания мышей ASC и CBA, а также повлияли на экспрессию ключевых генов 5-HT системы мозга мышей лишь линии ASC, но не CBA. По-видимому, 5-HT система мышей линии ASC более чувствительна к действию нейротрофических факторов. Несмотря на то, что BDNF имел обратное

влияние на депрессивноподобное поведение мышей, он так же повышал экспрессию гена ТПГ-2 в среднем мозге мышей ASC (Naumenko et al., 2012). По-видимому, повышение экспрессии гена кодирующего ТПГ-2 не является общим механизмом действия двух нейротрофических факторов на выраженность депрессивноподобного поведения, а есть компенсаторный механизм, например, в ответ на повышение экспрессии гена, кодирующего 5-HT_{1A} рецептор в среднем мозге, приводящее к снижению уровня серотонина в синаптической щели.

5-HT транспортер является первичной мишенью большинства классических антидепрессантов. Примечательно то, что ни GDNF, ни BDNF не оказали влияния на экспрессию гена 5-HT транспортера в среднем мозге исследуемых мышей.

В предварительных экспериментах мы обнаружили, что активность интактных мышей линий ASC и CBA/Lac в тесте “закапывание шариков” оказалась невысока по сравнению с данными других авторов, полученными на мышах распространенных инбредных линий, таких как AKR/J, CBA/J, BALB/c, C57BL/6, DBA/2J (Nicolas et al., 2006; Thomas et al., 2009). Введение GDNF не повлияло на стереотипное поведение мышей CBA, однако заметно повысило показатели обсессивно-компульсивного поведения мышей ASC – число закопанных шариков увеличилось почти шестикратно. Интересно, что эффекты BDNF и GDNF на стереотипное поведение, по-видимому, противоположны. Так, в результате повышенной экспрессии BDNF (Weidner et al., 2014) или его экзогенного введения мышам в модели пренатального воздействия стресса и алкоголя (Popova et al., 2011) выраженность обсессивно-компульсивного поведения в тесте «закапывание шариков» заметно снижалась. Клинические исследования указывают на неизменный уровень GDNF в крови пациентов с обсессивно-компульсивным расстройством (ОКР) по сравнению со здоровыми людьми (Fontenelle et al., 2012; Tunca et al., 2015).

Несмотря на чувствительность к анксиолитикам, стереотипное поведение в тесте «закапывание шариков» не связывают с уровнем тревожности животного (Thomas et al., 2009). Не связано оно и с исследовательской активностью, поскольку в повторных тестированиях, когда шарики теряли новизну, число закопанных шариков не сокращалось (Thomas et al., 2009). Кроме того, в наших

экспериментах наряду с увеличением числа закопанных шариков введение GDNF привело к снижению уровня тревожности у мышей ASC в двух других тестах.

Нужно отметить, что при введении животным психотропных препаратов, обладающих свойством активации 5-HT_{1A} рецепторов, закапывание шариков снижается, что указывает на роль этих рецепторов в обсессивно-компульсивном поведении (Abe et al., 1998; Matsushita et al., 2005; Harasawa et al., 2006). Известно, что нарушения в регуляции серотонинергической и дофаминергической систем мозга могут лежать в основе патофизиологии данных расстройств. Тогда как в 5-HT системе наблюдается ослабление передачи, в дофаминовой системе – наоборот усиление. Так, показано, что у пациентов с ОКР наблюдают увеличение дофаминергической передачи в ряде структур мозга (Marazziti et al., 1992; Denys et al., 2013; Hsieh et al., 2014). У мышей ASC стимулирование стереотипного поведения при введении GDNF сопровождалось повышением уровня дофамина в стриатуме (Семёнова и др., 2013). Найденное нами снижение экспрессии генов 5-HT_{1A} рецепторов в гиппокампе находится в согласии с данными об ослаблении 5-HT нервной передачи и клинической эффективности антидепрессантов группы СИОЗС в лечении ОКР (Vermeire et al., 2012; Fineberg et al., 2013; Dold et al., 2015).

Успешность нахождения животными платформы в водном тесте Морриса отражает способность к пространственному обучению и запоминанию (Morris, 1984). В данной работе показано, что контрольные мыши обеих исследуемых линий проявляли нормальные способности к обучению. Тогда как GDNF никак не влиял на динамику обучения мышей CBA, мыши ASC, которым вводили GDNF, показали лучшее время нахождения платформы, чем контрольные мыши. Этот положительный эффект GDNF на обучение согласуется с данными других исследователей по его влиянию на пространственное обучение и память в данной парадигме (Gerlai et al., 2001; Katsuragi et al., 2005; Pertusa et al., 2008; Revilla et al., 2014). Мы показали, что мыши линии ASC более чувствительны к введению GDNF, что проявлялось также в изменении уровня экспрессии ключевых генов 5-HT системы мозга. Можно предположить, что запускаемое GDNF усиление 5-HT нейропередачи способствовало улучшению показателей пространственного обучения и памяти. Так, при билатеральной доставке GDNF в CA1 область

гиппокампа у старых крыс регистрировали устойчивое улучшение показателей обучения, сопровождающееся увеличением уровня 5-HT в гиппокампе и кортикальных областях (Pertusa et al., 2008). Кроме влияния на 5-HT систему, GDNF стимулировал увеличение экспрессии генов D1 и D2 дофаминовых рецепторов в прилежащих ядрах у мышей ASC (Naumenko et al., 2014). Эти данные находят пересечение с исследованием на крысах, в котором было показано, что раннее отсаживание от матери крысят приводило к снижению показателей обучения в тесте Морриса при взрослении, сопровождающееся снижением экспрессии ключевых генов дофаминовой системы в прилежащих ядрах (Zhu et al., 2010). Вероятно, однократное введение GDNF приводит к улучшению показателей пространственного обучения и памяти у животных за счет способности GDNF усиливать синтез нейротрансмиттеров, таких как серотонин и дофамин.

Заключение

Однократное введение GDNF оказало влияние на поведение и серотониновую систему мозга мышей. При этом каталептическая «депрессивная» линия мышей ASC была более чувствительна к действию GDNF, чем каталептическая «недепрессивная» CBA, таким образом, влияние GDNF на поведение существенно зависит от генотипа.

Нами обнаружены поведенческие эффекты GDNF, как корректирующие патологическое поведение мышей ASC, такие как увеличение уровня двигательной активности, снижение уровня тревожности, сокращение выраженности каталепсии и улучшение способностей к обучению, так и усугубляющие – увеличение выраженности депрессивноподобного поведения и стимулирование обсессивно-компульсивного поведения. Полагаем, что изменения в поведении, внесенные этим нейротрофическим фактором, могут опосредоваться взаимодействием между GDNF и 5-HT системой мозга мышей, поскольку мы наблюдали изменения в экспрессии ключевых генов 5-HT системы. Молекулярные механизмы, с помощью которых осуществляется взаимовлияние GDNF и 5-HT системы мозга остаются под вопросом. Также требуются дальнейшие исследования взаимодействия GDNF с другими нейромедиаторными системами, ответственными за реализацию нормального и патологического поведения

Выводы

1. Однократное внутрижелудочковое введение GDNF оказывает выраженное генотипзависимое влияние на экспрессию ключевых генов серотониновой системы мозга и поведение. Мыши каталептической «депрессивной» линии ASC более чувствительны к GDNF, чем мыши каталептической «недепрессивной» линии CBA.
2. У мышей обеих линий под влиянием GDNF снижается выраженность генетически детерминированной каталепсии, но возрастает выраженность депрессивноподобного поведения.
3. У мышей линии ASC GDNF повышает двигательную активность, снижает показатели тревожности, стимулирует обсессивно-компульсивное поведение, улучшает показатели обучения в водном лабиринте Морриса.
4. Под влиянием GDNF у мышей линии ASC, но не CBA, возрастает экспрессия гена основного маркера активности серотониновой системы триптофангидроксилазы-2 в среднем мозге; повышаются уровни мРНК 5-HT_{1A} рецептора в среднем мозге и мРНК 5-HT_{2A} рецептора во фронтальной коре; значительно снижается уровень мРНК 5-HT_{1A} рецептора в гиппокампе.

Список цитируемой литературы

1. Базовкина, Д.В. Селекция на предрасположенность к каталепсии усиливает депрессивноподобное поведение у мышей / Д.В. Базовкина, А.В. Куликов, Е.М. Кондаурова, Н.К. Попова // Генетика. — 2005. — Т.41. — № 9. — С.1222-1228.
2. Вальтер, Х. Функциональна визуализация в психиатрии и психотерапии / Х. Вальтер // пер. с нем. А. Н. Анваер. – Москва: АСТ: Астрель: Полиграфиздат, 2010. – 416 с.
3. Гомазков, О.А. Старение мозга и нейротрофическая терапия / О.А. Гомазков. — Москва: ИКАР, 2011. — 180 с.
4. Иванов, А.Д. Роль NGF и BDNF в регуляции деятельности зрелого мозга / А.Д. Иванов // Журн. Высш. Нервн. Деят. – 2014. – Т. 64. - № 2. – С. 137-146.
5. Куликов, А.В. Генетический контроль каталепсии у мышей / А.В.Куликов, Е.Ю. Козлачкова, Н.К. Попова // Генетика. – 1989. – Т.25. - № 8. – С. 1402–1408.
6. Науменко, В.С. Влияние селекции на высокую предрасположенность к каталепсии, на функциональную активность 5-HT1A-рецепторов и экспрессию кодирующего их гена / В.С. Науменко, Е.М. Кондаурова, А.В. Куликов, Н.К. Попова // Докл. Акад. Наук. — 2006. — Т.409. — № 1. — С. 133-135.
7. Науменко, В.С. Количественное определение экспрессии гена 5-HT_{1A} серотонинового рецептора в головном мозге / В.С. Науменко, А.В. Куликов // Мол. Биол. — 2006. — Т.40. — № 1. — С. 37-44.
8. Попова, Н.К. Роль серотонина мозга в экспрессии генетически детерминированного защитно-оборонительного поведения / Н.К. Попова // Генетика. — 2004. — Т.40. — № 6. — С. 770-778.
9. Попова, Н.К. Нейротрофический фактор мозга: влияние на генетически и эпигенетически детерминированные нарушения поведения / Н.К. Попова, М.В. Морозова // Росс. физиол. журн. – 2013. - Т. 99. – № 10. – С. 1125-1137.

10. Попова, Н.К. Полиморфизм серотониновых 5-НТ рецепторов как основа полифункциональности серотонина / Н.К. Попова, В.С. Науменко // Росс. физиол. журн. – 2010. – № 8. – С. 778-786.
11. Попова, Н.К. Серотонин и поведение / Н.К. Попова, Е.В. Науменко, В.Г. Колпаков. — Новосибирск : Наука, 1978. — 304 с.
12. Семёнова, А.А. Влияние GDNF на поведение мышей линии ASC с высокой наследственной предрасположенностью к каталепсии / А.А. Семёнова, Д.В. Базовкина, А.С. Цыбко, В.С. Науменко, Н.К. Попова // Журн. Высш. Нервн. Деят. – 2013. – Т. 63. - № 4. – С. 495-501.
13. Тихонова, М.А. Влияние хронического введения флуоксетина на выраженность полового мотивационного и социального поведения мышей линии ASC / М.А. Тихонова, Е.А. Отрощенко, А.В. Куликов // Росс. физиол. журн. — 2010. — Т.96. — № 2. — С. 163-172.
14. Тихонова, М.А. Эффект имипрамина на поведение и 5-HT_{1A}-серотониновые рецепторы мозга у мышей с генетической предрасположенностью к реакции замирания / М.А. Тихонова, В.В. Лебедева, А.В. Куликов, Д.В. Базовкина, Н.К. Попова // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2006. — Т.141. — № 1. — С. 53-55.
15. Тихонова, М.А. Влияние хронического введения флуоксетина на каталепсию и иммунный ответ мышей с генетической предрасположенностью к реакции замирания: Роль серотониновых рецепторов 1А и 2А типов и генов tph2 и SERT / М.А. Тихонова, Е.Л. Альперина, Т.Г. Толстикова, Д.В. Базовкина, В.Ю. Ди, Г.В. Идова, А.В. Куликов, Н.К. Попова // Журн. Высш. Нервн. Деят. — 2009. — Т.59. — № 2. — С.237-244.
16. Abe, K. Therapeutic Potential of Neurotrophic Factors and Neural Stem Cells Against Ischemic Brain Injury / K. Abe // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2000. – Vol. 20. – N 10. – P. 1393-1408.
17. Abe, M. Effect of 5-[3-[((2S)-1,4-benzodioxan-2-ylmethyl)amino]propoxy]-1,3-benzodioxole HCl (MKC-242), a novel 5-HT1A-receptor agonist, on aggressive behavior and marble burying behavior in mice / M. Abe, H. Nakai, R. Tabata, K. Saito, M. Egawa // Jpn. J. Pharmacol. – 1998. – Vol. 76. – N 3. – P. 297-304.

18. Airaksinen, M.S. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value / M.S. Airaksinen, M. Saarma // Nat. Rev. Neurosci. – 2002. – Vol. 3. – N 5. – P. 383-394.
19. Albert, P.R. Transcriptional regulation of the 5-HT1A receptor: implications for mental illness / P.R. Albert // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. – 2012. – Vol. 367. – N 1601. – P. 2402-2515.
20. Allen, S.J. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration / S.J. Allen, J.J. Watson, D.K. Shoemark, N.U. Barua, N.K. Patel // Pharmacol. Ther. – 2013. –Vol. 138. – N 2. – P. 155-175.
21. Angoa-Pérez, M. Genetic depletion of brain 5HT reveals a common molecular pathway mediating compulsivity and impulsivity / M. Angoa-Pérez, M.J. Kane, D.I. Briggs, C.E. Sykes, M.M. Shah, D.M. Francescutti, D.R. Rosenberg, D.M. Thomas, D.M. Kuhn // J. Neurochem. – 2012. – Vol. 121. – N 6. – P. 974-984.
22. Arenas, E. GDNF prevents degeneration and promotes the phenotype of brain noradrenergic neurons in vivo / E. Arenas, M. Trupp, P. Akerud, C.F. Ibáñez // Neuron. – 1995. – Vol. 15. – N 6. – P. 1465-1473.
23. Assie, M.B. F15599, a highly selective post-synaptic 5-HT(1A) receptor agonist: in-vivo profile in behavioural models of antidepressant and serotonergic activity / M.B. Assié, L. Bardin, A.L. Auclair, E. Carilla-Durand, R. Depoortère, W. Koek, M.S. Kleven, F. Colpaert, B. Vacher, A. Newman-Tancredi // Int. J. Neuropsychopharmacol. – 2010. – Vol. 13. – N 10. – P. 1285-1298.
24. Bach-Mizrachi, H. Neuronal tryptophan hydroxylase mRNA expression in the human dorsal and median raphe nuclei: major depression and suicide / H. Bach-Mizrachi, M.D. Underwood, S.A. Kassir, M.J. Bakalian, E. Sibille, H. Tamir, J.J. Mann, V. Arango // Neuropsychopharmacology. – 2006. – Vol. 31. – N 4. – P. 814-824.
25. Baeken, C. Is treatment-resistance in unipolar melancholic depression characterized by decreased serotonin$_2$A receptors in the dorsal prefrontal - anterior cingulate cortex? / C. Baeken, R. De Raedt, A. Bossuyt // Neuropharmacology. – 2012. – Vol. 62. – N 1. – P. 340-346.

26. Baloh, R.H. Artemin, a novel member of the GDNF ligand family, supports peripheral and central neurons and signals through the GFRalpha3-RET receptor complex / R.H. Baloh, M.G. Tansey, P.A. Lampe, T.J. Fahrner, H. Enomoto, K.S. Simburger, M.L. Leitner, T. Araki, E.M. Jr Johnson , J. Milbrandt // Neuron. – 1998. – Vol. 21. – N 6. – P. 1291-1302.
27. Barbosa, I.G. Circulating levels of GDNF in bipolar disorder / I.G. Barbosa, R.B. Huguet, L.P. Sousa, M.N. Abreu, N.P. Rocha, M.E. Bauer, L.A. Carvalho, A.L. Teixeira // Neurosci. Lett. – 2011. – Vol. 502. – N 2. – P. 103-106.
28. Barde, Y.A. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain / Y.A. Barde, D. Edgar, H. Thoenen // EMBO J.- 1982. – Vol. 1. – N 5. – P. 549-553.
29. Barnes, N.M. A review of central 5-HT receptors and their function / N.M. Barnes, T. Sharp // Neuropharmacology. – 1999. – Vol. 38. – N 8. – P. 1083-1152.
30. Bhagwagar, Z. Increased 5-HT(2A) receptor binding in euthymic, medication-free patients recovered from depression: a positron emission study with [(11)C]MDL 100,907 / Z. Bhagwagar, R. Hinz, M. Taylor, S. Fancy, P. Cowen, P. Grasby // Am. J. Psychiatry. – 2006. – Vol. 163. – N 9. – P. 1580-1587.
31. Beck, K.D. GDNF induces a dystonia-like state in neonatal rats and stimulates dopamine and serotonin synthesis / K.D. Beck, I. Irwin, J. Valverde, T.J. Brennan, J.W. Langston, F. Hefti // Neuron. – 1996. – Vol. 16. – N 3. – P. 665-673.
32. Berger, M. The expanded biology of serotonin / M. Berger, J.A. Gray, B.L. Roth // Annu. Rev. Med. – 2009. – Vol. 60. – P. 355-366.
33. Bian, Y. Learning, memory, and glial cell changes following recovery from chronic unpredictable stress / Y. Bian, Z. Pan, Z. Hou, C. Huang, W. Li, B. Zhao // Brain Res. Bull. – 2012. – Vol. 88. – N 5. – P. 471-476.
34. Biju, K. macrophage-mediated GDNF delivery protects against dopaminergic neurodegeneration: a therapeutic strategy for Parkinson's disease / K. Biju, Q. Zhou, G. Li, S.Z. Imam, J.L. Roberts, W.W. Morgan, R.A. Clark, S. Li // Mol. Ther. – 2010. – Vol. 18. – N 8. – P. 1536-1544.
35. Blakely, R.D. Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain / R.D. Blakely, H.E. Berson, R.T.Jr. Fremeau , M.G.

Caron, M.M. Peek, H.K. Prince, C.C. Bradley // Nature. – 1991. – Vol. 354. – N 6348. – P. 66-70.

36. Bockaert, J. Neuronal 5-HT metabotropic receptors: fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation / J. Bockaert, S. Claeysen, C. Bécamel, A. Dumuis, P. Marin // Cell Tissue Res. – 2006. – Vol. 326. – N 2. – P. 553-572.
37. Boger, H.A. Long-term consequences of methamphetamine exposure in young adults are exacerbated in glial cell line-derived neurotrophic factor heterozygous mice / H.A. Boger, L.D. Middaugh, K.S. Patrick, S. Ramamoorthy, E.D. Denehy, H. Zhu, A.M. Pacchioni, A.C. Granholm, J.F. McGinty // J. Neurosci. – 2007. – Vol. 27. – N 33. – P. 8816-8825.
38. Boldrini, M. More tryptophan hydroxylase in the brainstem dorsal raphe nucleus in depressed suicides / M. Boldrini, M.D. Underwood, J.J. Mann, V. Arango // Brain Res. – 2005. – Vol. 1041. – N 1. – P. 19-28.
39. Bourque, M.J. GDNF enhances the synaptic efficacy of dopaminergic neurons in culture / M.J. Bourque, L.E. Trudeau // Eur. J. Neurosci. – 2000. – Vol. 12. – N 9. – P. 3172-3180.
40. Bowenkamp, K.E. Glial cell line-derived neurotrophic factor reverses motor impairment in 16-17 month old rats / K.E. Bowenkamp, P.A. Lapchak, B.J. Hoffer, P.C. Bickford // Neurosci. Lett. – 1996. – Vol. 211. – N 2. – P. 81-84.
41. Bowenkamp, K.E. Intracerebroventricular glial cell line-derived neurotrophic factor improves motor function and supports nigrostriatal dopamine neurons in bilaterally 6-hydroxydopamine lesioned rats / K.E. Bowenkamp, P.A. Lapchak, B.J. Hoffer, P.J. Miller, P.C. Bickford // Exp. Neurol. – 1997. – Vol. 145. – N 1. – P. 104-117.
42. Buj-Bello, A. GDNF is an age-specific survival factor for sensory and autonomic neurons / A. Buj-Bello, V.L. Buchman, A. Horton, A. Rosenthal, A.M. Davies // Neuron. – 1995. – Vol. 15. – N 4. – P. 821-888.

43. Campbell, S. Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis / S. Campbell, M. Marriott, C. Nahmias, G.M. MacQueen // Am. J. Psychiatry. – 2004. – Vol. 161. – N 4. – P. 598-607.
44. Canal, C.E. Head-twitch response in rodents induced by the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine: a comprehensive history, a re-evaluation of mechanisms, and its utility as a model / C.E. Canal, D. Morgan // Drug Test Anal. – 2012. – Vol. 4. – N 7-8. P. 556-576.
45. Carr, G.V. The role of serotonin receptor subtypes in treating depression: a review of animal studies / G.V. Carr, I. Lucki // Psychopharmacology (Berl). – 2011. – Vol. 213. – N 2-3. – P. 265-287.
46. Cass, W.A. GDNF selectively protects dopamine neurons over serotonin neurons against the neurotoxic effects of methamphetamine / W.A. Cass // J. Neurosci. – 1996. – Vol. 16. – N 24. – P. 8132-8139.
47. Celada, P. The therapeutic role of 5-HT1A and 5-HT2A receptors in depression // P. Celada, M. Puig, M. Amargós-Bosch, A. Adell, F. Artigas // J. Psychiatry Neurosci. – 2004. – Vol. 29. – N 4. – P. 252-265.
48. Chen, Y.H. MPTP-induced deficits in striatal synaptic plasticity are prevented by glial cell line-derived neurotrophic factor expressed via an adeno-associated viral vector / Y.H. Chen, B.K. Harvey, A.F. Hoffman, Y. Wang, Y.H. Chiang, C.R. Lupica // FASEB J. – 2008. – Vol. 22. – N 1. – P. 261-275.
49. Chen, S.S. Intrastriatal GDNF gene transfer by inducible lentivirus vectors protects dopaminergic neurons in a rat model of parkinsonism / S.S. Chen, C. Yang, F. Hao, C. Li, T. Lu, L.R. Zhao, W.M. Duan // Exp. Neurol. – 2014. – Vol. 261. – P. 87-96.
50. Choi-Lundberg, D.L. Ontogeny and distribution of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) mRNA in rat / D.L. Choi-Lundberg, M.C. Bohn // Brain Res. Dev. Brain Res. – 1995. – Vol. 85. – N 1. – P. 80-88.
51. Chomczynski, P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // Anal. Biochem. — 1987. — Vol. 162. — N 1. — P. 156-159.

52. Cohen, S. A Nerve Growth-Stimulating Factor Isolated from Sarcomas 37 and 180 / S. Cohen, R. Levi-Montalcini, V. Hamburger // Proc. N. A. S. USA. – 1954. – Vol. 40. – N 10. – P. 1014-1018.
53. Crawley, J. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines / J. Crawley, F.K. Goodwin // Pharmacol. Biochem. Behav. – 1980. – Vol. 13. – N 2. – P. 167-170.
54. d'Anglemont de Tassigny, X. GDNF-based therapies, GDNF-producing interneurons, and trophic support of the dopaminergic nigrostriatal pathway. Implications for Parkinson's disease / X. d'Anglemont de Tassigny, A. Pascual, J. López-Barneo // Front Neuroanat. –2015. – Vol. 9. – P.10.
55. De Vicente, J.C. Impaired dental cytodifferentiation in glial cell-line derived growth factor (GDNF) deficient mice / J.C. de Vicente, R. Cabo, E. Ciriaco, R. Laurà, F.J. Naves, I. Silos-Santiago, J.A. Vega // Ann. Anat. – 2002. – Vol. 184. – N 1. – P. 85-92.
56. Denys, D. Dopaminergic activity in Tourette syndrome and obsessive-compulsive disorder / D. Denys, F. de Vries, D. Cath, M. Figee, N. Vulink, D.J. Veltman, T.F. van der Doef, R. Boellaard, H. Westenberg, A. van Balkom, A.A. Lammertsma, B.N. van Berckel // Eur. Neuropsychopharmacol. – 2013. – Vol. 23. – N 11. – P. 1423-1431.
57. Diniz, B.S. Circulating Glial-derived neurotrophic factor is reduced in late-life depression / B.S. Diniz, A.L. Teixeira, A.S. Miranda, L.L. Talib, W.F. Gattaz, O.V. Forlenza // J. Psychiatr. Res. – 2012. – Vol. 46. – N 1. – P. 135-139.
58. Dold, M. Antipsychotic Augmentation of Serotonin Reuptake Inhibitors in Treatment-Resistant Obsessive-Compulsive Disorder: An Update Meta-Analysis of Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trials / M. Dold, M. Aigner, R. Lanzenberger, S. Kasper // Int. J. Neuropsychopharmacol. – 2015. – Vol. 18. – N 9.
59. Dougherty, D.D. Pharmacotherapy for obsessive-compulsive disorder / D.D. Dougherty, S.L. Rauch, M.A. Jenike // J. Clin. Psychol. – 2004. – Vol. 60. – N 11. – P. 1195-1202.

60. Drevets, W.C. Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review / W.C. Drevets, M.E. Thase, E.L. Moses-Kolko, J. Price, E. Frank, D.J. Kupfer, C. Mathis // Nucl. Med. Biol. – 2007. – Vol. 34. – N 7. – P. 865-877.
61. Du, Y. Adeno-associated virus type 2 vector-mediated glial cell line-derived neurotrophic factor gene transfer induces neuroprotection and neuroregeneration in a ubiquitin-proteasome system impairment animal model of Parkinson's disease / Y. Du, X. Zhang, Q. Tao, S. Chen, W. Le // Neurodegener. Dis. – 2013. – Vol. 11. – N 3. – P. 113-128.
62. Ducray, A. GDNF family ligands display distinct action profiles on cultured GABAergic and serotonergic neurons of rat ventral mesencephalon / A. Ducray, S.H. Krebs, B. Schaller, R.W. Seiler, M. Meyer, H.R. Widmer // Brain Res. – 2006. – Vol. 1069. – N 1. – P. 104-112.
63. Duman, R.S. A molecular and cellular theory of depression / R.S. Duman, G.R. Heninger, E.J. Nestler // Arch. Gen. Psychiatry. – 1997. – Vol. 54. – N 7. – P. 597-606.
64. Emerich, D.F. Alleviation of behavioral deficits in aged rodents following implantation of encapsulated GDNF-producing fibroblasts / D.F. Emerich, M. Plone, J. Francis, B.R. Frydel, S.R. Winn, M.D. Lindner // Brain Res. – 1996. – Vol. 736. – N 1-2. – P. 99-110.
65. Fargali, S. Role of neurotrophins in the development and function of neural circuits that regulate energy homeostasis / S. Fargali, M. Sadahiro, C. Jiang, A.L. Frick, T. Indall, V. Cogliani, J. Welagen, W.J. Lin, S.R. Salton // J. Mol. Neurosci. – 2012. – Vol. 48. – N 3. – P. 654-659.
66. Filip, M. Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system / M. Filip, M. Bader // Pharmacol. Rep. – 2009. – Vol. 61. – N 5. – P. 761-777.
67. Fineberg, N.A. Pharmacotherapy of obsessive-compulsive disorder: evidence-based treatment and beyond / N.A. Fineberg, S. Reghunandanan, A. Brown, I. Pampaloni // Aust. N. Z. J. Psychiatry. – 2013. – Vol. 47. – N 2. – P. 121-141.

68. Fisher, C.E. Erk MAP kinase regulates branching morphogenesis in the developing mouse kidney / C.E. Fisher, L. Michael, M.W. Barnett, J.A. Davies // Development. – 2001. – Vol. 128. – N 21. – P. 4329-4338.
69. Focke, P.J. Enteric neuroblasts require the phosphatidylinositol 3-kinase pathway for GDNF-stimulated proliferation / P.J. Focke, C.A. Schiltz, S.E. Jones, J.J. Watters, M.L. Epstein // J. Neurobiol. – 2001. – Vol. 47. – N 4. – P. 306-317.
70. Fontenelle, L.F. Neurotrophic factors in obsessive-compulsive disorder / L.F. Fontenelle, I.G. Barbosa, J.V. Luna, N.P. Rocha, A.S. Miranda, A.L. Teixeira // Psychiatry Res. – 2012. – Vol. 199. – N 3. – P. 195-200.
71. Frasson, M. Glial cell line-derived neurotrophic factor induces histologic and functional protection of rod photoreceptors in the rd/rd mouse / M. Frasson, S. Picaud, T. Léveillard, M. Simonutti, S. Mohand-Said, H. Dreyfus, D. Hicks, J. Sabel // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1999. – Vol. 40. – N 11. – P. 2724-2734.
72. Fu, R. Involvement of phospholipase C-γ in the pro-survival role of glial cell line-derived neurotrophic factor indeveloping motoneurons in rat spinal cords / R. Fu, L.Q. Wang, G.L. Chu, L.H. Zhou // Mol. Med. Rep. – 2012. – Vol. 6. – N 4. – P. 805-810.
73. Garcia-Garcia, A.L. 5-HT(1A) receptors in mood and anxiety: recent insights into autoreceptor versus heteroreceptor function / A.L. Garcia-Garcia, A. Newman-Tancredi, E.D. Leonardo // Psychopharmacology (Berl). – 2014. – Vol. 231. – N 4. – P. 623-636.
74. Gerhardt, G.A. GDNF improves dopamine function in the substantia nigra but not the putamen of unilateral MPTP-lesioned rhesus monkeys / G.A. Gerhardt, W.A. Cass, P. Huettl, S. Brock, Z. Zhang, D.M. Gash // Brain Res. – 1999. – Vol. 817. – N 1-2. – P. 163-171.
75. Gerlai, R. Impaired water maze learning performance without altered dopaminergic function in mice heterozygous for the GDNF mutation / R. Gerlai, A. McNamara, D.L. Choi-Lundberg, M. Armanini, J. Ross, L. Powell-Braxton, H.S. Phillips // Eur. J. Neurosci. – 2001. – Vol. 14. – P. 1153-1163.
76. Gill, S.S. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease / S.S. Gill, N.K. Patel, G.R. Hotton, K. O'Sullivan, R.

McCarter, M. Bunnage, D.J. Brooks, C.N. Svendsen, P. Heywood // Nat. Med. – 2003. – Vol. 9. N 5. – P. 589-595.

77. Glazner, G.W. Localization of glial cell line-derived neurotrophic factor receptor alpha and c-ret mRNA in rat central nervous system / G.W. Glazner, X. Mu, J.E. Springer // J. Comp. Neurol. – 1998. – Vol. 391. – N 1. – P. 42-49.
78. Golan, M. Antidepressants elevate GDNF expression and release from C_6 glioma cells in a β-arrestin1-dependent, CREB interactive pathway / M. Golan, G. Schreiber, S. Avissar // Int. J. Neuropsychopharmacol. – 2011. – Vol. 14. – N 10. – P. 1289-1300.
79. Gray, N.A. Antidepressant treatment reduces serotonin-1A autoreceptor binding in magor depressive disorder / N.A. Gray, M.S. Milak, C. DeLorenzo, R.T. Ogden, Y.Y. Huang, J.J. Mann, R.V. Parsey // Biol. Psychiatry. – 2013. – Vol. 74. – N 1. – P. 26-31.
80. Grondin, R. Glial cell line-derived neurotrophic factor increases stimulus-evoked dopamine release and motor speed in aged rhesus monkeys / R. Grondin, W.A. Cass, Z. Zhang, J.A. Stanford, D.M. Gash, G.A. Gerhardt // J. Neurosci. – 2003. – Vol. 23. – N 5. – P. 1974-1980.
81. Gutknecht, L. Interaction of brain 5-HT synthesis deficiency, chronic stress and sex differentially impact emotional behavior inTph2 knockout mice / L. Gutknecht, S. Popp, J. Waider, F.M. Sommerlandt, C. Göppner, A. Post, A. Reif, D. van den Hove, T. Strekalova, A. Schmitt, M.B. Colaço, C. Sommer, R. Palme, K.P. Lesch // Psychopharmacology (Berl). – 2015. – Vol. 232. – N 14. – P. 2429-2441.
82. Gutknecht, L. Deficiency of brain 5-HT synthesis but serotonergic neuron formation in Tph2 knockout mice / L. Gutknecht, J. Waider, S. Kraft, C. Kriegebaum, B. Holtmann, A. Reif, A. Schmitt, K.P. Lesch // J. Neural. Transm. – 2008. – Vol. 115. – N 8. – P. 1127-1132.
83. Harasawa, T. Role of serotonin type 1A receptors in fluvoxamine-induced inhibition of marble-burying behavior in mice / T. Harasawa, Y. Ago, S. Itoh, A. Baba, T. Matsuda // Behav. Pharmacol. – 2006. – Vol. 17. – N 7. – P. 637-640.

84. Hebert, M.A. Behavioral and neurochemical effects of intranigral administration of glial cell line-derived neurotrophic factor on aged Fisher 344 rats / M.A. Hebert, G.A. Gerhardt // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1997. – Vol. 282. – N 2. – P. 760-768.
85. Hebert, M.A. Functional effects of GDNF in normal rat striatum: presynaptic studies using in vivo electrochemistry and microdialysis / M.A. Hebert, C.G. Van Horne, B.J. Hoffer, G.A. Gerhardt // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1996. – Vol. 279. – N 3. – P. 1181-1190.
86. Henderson, C.E. GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle / C.E. Henderson, H.S. Phillips, R.A. Pollock, A.M. Davies, C. Lemeulle, M. Armanini, L. Simmons, B. Moffet, R.A. Vandlen, L.C. Simpson corrected to L. Simmons, V.E. Koliatsos, A. Rosenthal, et al. // Science. – 1994. – Vol. 266. – N 5187. – P. 1062-1064.
87. Hirvonen, J. Decreased brain serotonin 5-HT1A receptor availability in medication-naive patients with major depressive disorder: an in-vivo imaging study using PET and [carbonyl-11C]WAY-100635 / J. Hirvonen, H. Karlsson, J. Kajander, A. Lepola, J. Markkula, H. Rasi-Hakala, K. Någren, J.K. Salminen, J. Hietala // Int. J. Neuropsychopharmacol. – 2008. – Vol. 11. – N 4. – P. 465-476.
88. Hisaoka, K. Serotonin increases glial cell line-derived neurotrophic factor release in rat C6 glioblastoma cells / K. Hisaoka, A. Nishida, M. Takebayashi, T. Koda, S. Yamawaki, Y. Nakata // Brain Res. – 2004. – Vol. 1002. – N 1-2. – P. 167-170.
89. Hisaoka, K. Antidepressant drug treatments induce glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) synthesis and release inrat C6 glioblastoma cells / K. Hisaoka, A. Nishida, T. Koda, M. Miyata, H. Zensho, S. Morinobu, M. Ohta, S. Yamawaki // J. Neurochem. – 2001. – Vol. 79. – N 1. – P. 25-34.
90. Hogg, S. Contrasting behavioural effects of 8-OH DPAT in the dorsal raphé nucleus and ventral hippocampus / S. Hogg, N. Andrews, S.E. File // Neuropharmacology. – 1994. – Vol. 33. – N 3-4. – P. 343-348.

91. Hoyer, D. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors / D. Hoyer, J.P. Hannon, G.R. Martin // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2002. – Vol. 71. – N 4. – P. 533-554.
92. Hsieh, H.J. L-3,4-Dihydroxy-6-[F-18]fluorophenylalanine positron emission tomography demonstrating dopaminergic system abnormality in the brains of obsessive-compulsive disorder patients // H.J. Hsieh, K.H. Lue, H.C. Tsai, C.C. Lee, S.Y. Chen, P.F. Kao // Psychiatry Clin. Neurosci. – 2014. – Vol. 68. – N 4. – P. 292-298.
93. Hudson, J. Glial cell line-derived neurotrophic factor augments midbrain dopaminergic circuits in vivo / J. Hudson, A.C. Granholm, G.A. Gerhardt, M.A. Henry, A. Hoffman, P. Biddle, N.S. Leela, L. Mackerlova, J.D. Lile, F. Collins, et al. // Brain Res. Bull. – 1995. – Vol. 36. – N 5. – P. 425-432.
94. Jiang, P. The impact of swimming exercise on hippocampal expression of neurotrophic factors in rats exposed to chronic unpredictable mild stress / P. Jiang, R.L. Dang, H.D. Li, L.H. Zhang, W.Y. Zhu, Y. Xue, M.M. Tang // Evid. Based Complement. Alternat. Med. – 2014. – Article 729827.
95. Joel, D. Current animal models of obsessive compulsive disorder: a critical review / D. Joel // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2006. – Vol. 30. – N 3. – P. 374-388.
96. Kanning, K.C. Motor neuron diversity in development and disease / K.C. Kanning, A. Kaplan, C.E. Henderson // Annu. Rev. Neurosci. – 2010. – Vol. 33. – P. 409-440.
97. Katsuragi, S. Implantation of encapsulated glial cell line-derived neurotrophic factor-secreting cells prevents long-lasting learning impairment following neonatal hypoxic-ischemic brain insult in rats / S. Katsuragi, T. Ikeda, I. Date, T. Shingo, T. Yasuhara, K. Mishima, N. Aoo, K. Harada, N. Egashira, K. Iwasaki, M. Fujiwara, T. Ikenoue // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2005. – Vol. 192. – N 4. – P. 1028-1037.
98. Kaufman, J. Quantification of the Serotonin 1A Receptor Using PET: Identification of a Potential Biomarker of Major Depression in Males / J. Kaufman, G.M.

Sullivan, J. Yang, R.T. Ogden, J.M. Miller, M.A. Oquendo, J.J. Mann, R.V. Parsey, C. DeLorenzo // Neuropsychopharmacology. – 2015. – Vol. 40. – N 7. – P. 1692-1699.

99. Kearns, C.M. GDNF protection against 6-OHDA: time dependence and requirement for protein synthesis / C.M. Kearns, W.A. Cass, K. Smoot, R. Kryscio, D.M. Gash // J. Neurosci. – 1997. – Vol. 17. – N 18. – P. 7111-7118.
100. Keller-Peck, C.R. Glial cell line-derived neurotrophic factor administration in postnatal life results in motor unit enlargement and continuous synaptic remodeling at the neuromuscular junction / C.R. Keller-Peck, G. Feng, J.R. Sanes, Q. Yan, J.W. Lichtman, W.D. Snider // J. Neurosci. – 2001. – Vol. 21. – N 16. – P. 6136-6146.
101. Kitagawa, H.
Reduction of ischemic brain injury by topical application of glial cell line-derived neurotrophic factor afterpermanent middle cerebral artery occlusion in rats / H. Kitagawa, T. Hayashi, Y. Mitsumoto, N. Koga, Y. Itoyama, K. Abe // Stroke. – 1998. – Vol. 29. – N 7. – P. 1417-1422.
102. Koprowska, M.
Fear behavior and regional brain monoamines distribution after R(+)-8-OHDPAT and R(+)-UH-301 injections into the dorsal raphe nucleus in rats / M. Koprowska, M. Krotewicz, A. Romaniuk, M. Strzelczuk, M. Wieczorek // Acta Neurobiol. Exp. (Wars). – 2002. – Vol. 62. –N 2. – P. 63-74.
103. Kotzbauer, P.T. Neurturin, a relative of glial-cell-line-derived neurotrophic factor / P.T. Kotzbauer, P.A. Lampe, R.O. Heuckeroth , J.P. Golden , D.J. Creedon , E.M. Jr Johnson, J. Milbrandt // Nature. – 1996. – Vol. 384. – N 6608. – P. 467-470.
104. Kuang, R. Glial cell line-derived neurotrophic factor. Potential for otoprotection / R. Kuang, G. Hever, G. Zajic, Q. Yan, F. Collins, J.C. Louis, E. Keithley, E. Magal // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1999. – Vol. 884. – P. 270-291.
105. Kulikov, A.V. Automated measurement of special preference in the open field test with transmitted lighting / A.V. Kulikov, M.A. Tikhonova, V.A. Kulikov // J. Neurosci. Meth. — 2008. — Vol. 170. — N 2. — P. 345-351.

106. Lapchak, P.A. Glial cell line-derived neurotrophic factor: distribution and pharmacology in the rat following a bolus intraventricular injection / P.A. Lapchak, S. Jiao, F. Collins, P.J. Miller // Brain Res. – 1997. – Vol. 747. – N 1. – P. 92-102.
107. Lee, R. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins / R. Lee, P. Kermani, K.K. Teng, B.L. Hempstead // Science. – 2001. – Vol. 294. – N 5548. – P. 1945-1948.
108. Li, S.J. The role of TNF-α, IL-6, IL-10, and GDNF in neuronal apoptosis in neonatal rat with hypoxic-ischemic encephalopathy / S.J. Li, W. Liu, J.L. Wang, Y. Zhang, D.J. Zhao, T.J. Wang, Y.Y. Li // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2014. – Vol. 18. – N 6. – P. 905-909.
109. Lin, L.F. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons / L.F. Lin, D.H. Doherty, J.D. Lile, S. Bektesh, F. Collins // Science. – 1993. – Vol. 260. – N 5111. – P. 1130–1132.
110. Lin, L.F. Purification and initial characterization of rat B49 glial cell line-derived neurotrophic factor / L.F. Lin, T.J. Zhang, F. Collins, L.G. Armes // J. Neurochem. – 1994. – Vol. 63. – N 2. – P. 758-768.
111. Liu, Q. Chronic clomipramine treatment restores hippocampal expression of glial cell line-derived neurotrophic factor in a rat model of depression / Q. Liu, H.Y. Zhu, B. Li, Y.Q. Wang, J. Yu, G.C. Wu // J. Affect. Disord. – 2012. – Vol. 141. – N 2-3. – P. 367-372.
112. Lonka-Nevalaita, L. Characterization of the intracellular localization, processing, and secretion of two glial cell line-derivedneurotrophic factor splice isoforms / L. Lonka-Nevalaita, M. Lume, S. Leppänen, E. Jokitalo, J. Peränen, M. Saarma // J. Neurosci. – 2010. – Vol. 30. – N 34. – P. 11403-11413.
113. Lothe, A. 5-HT(1A) receptor binding changes in patients with major depressive disorder before and after antidepressant treatment: a pilot [^{18}F]MPPF positron emission tomography study / A. Lothe, M. Saoud, S. Bouvard, J. Redouté, J. Lerond, P. Ryvlin // Psychiatry Res. – 2012. – Vol. 203. – N 1. – P. 103-104.

114. Lu, Y. BDNF: a key regulator for protein synthesis-dependent LTP and long-term memory? / Y. Lu, K. Christian, B. Lu // Neurobiol. Learn Mem. – 2008. – Vol. 89. – N 3. – P. 312-323.
115. Luukko, K. Expression of GDNF and its receptors in developing tooth is developmentally regulated and suggests multiple roles in innervations and organogenesis / K. Luukko, P. Suvanto, M. Saarma, I. Thesleff // Dev. Dyn. – 1997. – Vol. 210. – N 4. – P. 463-471.
116. MacGillivray, L. Role of serotonin transporter inhibition in the regulation of tryptophan hydroxylase in brainstem raphe nuclei: time course and regional specificity / L. MacGillivray, L.M. Lagrou, K.B. Reynolds, P.I. Rosebush, M.F. Mazurek // Neuroscience. – 2010. – Vol. 171. – N 2. – P. 407-420.
117. Marazziti, D. Peripheral markers of serotonin and dopamine function in obsessive-compulsive disorder / D. Marazziti, E. Hollander, P. Lensi, S. Ravagli, G.B. Cassano // Psychiatry Res. – 1992. – Vol. 42. – N 1. – P. 41-51.
118. Martin, D. Glial cell line-derived neurotrophic factor: the lateral cerebral ventricle as a site of administration for stimulation of the substantia nigra dopamine system in rats / D. Martin, G. Miller, N. Fischer, D. Diz, T. Cullen, D. Russell // Eur. J. Neurosci. – 1996a. – Vol. 8. – N 6. – P. 1249-1255.
119. Martin, D. Intranigral or intrastriatal injections of GDNF: effects on monoamine levels and behavior in rats / D. Martin, G. Miller, T. Cullen, N. Fischer, D. Dix, D. Russell // Eur. J. Pharmacol. – 1996b. – Vol. 317. – N 2-3. – P. 247-256.
120. Martinowich, K. Interaction between BDNF and serotonin: role in mood disorders / K. Martinowich, B. Lu // Neuropsychopharmacology. – 2008. – Vol. 33. – N 1. – P. 73-83.
121. Matsushita, M. Perospirone, a novel antipsychotic drug, inhibits marble-burying behavior via 5-HT1A receptor in mice:implications for obsessive-compulsive disorder / M. Matsushita, N. Egashira, S. Harada, R. Okuno, K. Mishima, K. Iwasaki, R. Nishimura, M. Fujiwara // J. Pharmacol. Sci. – 2005. – Vol. 99. – N 2. – P. 154-159.

122. Melillo, R.M. Ret-mediated mitogenesis requires Src kinase activity / R.M. Melillo, M.V. Barone, G. Lupoli, A.M. Cirafici, F. Carlomagno, R. Visconti, B. Matoskova, P.P. Di Fiore, G. Vecchio, A. Fusco, M. Santoro // Cancer Res. – 1999. – Vol. 59. – N 5. – P. 1120-1126.
123. Messa, C. 5-HT(2A) receptor binding is reduced in drug-naive and unchanged in SSRI-responder depressed patientscompared to healthy controls: a PET study / C. Messa, C. Colombo, R.M. Moresco, C. Gobbo, L. Galli, G. Lucignani, M.C. Gilardi, G. Rizzo, E. Smeraldi, R. Zanardi, F. Artigas, F. Fazio // Psychopharmacology (Berl). – 2003. – Vol. 167. – N 1. – P. 72-78.
124. Meyer, J.H. Dysfunctional attitudes and 5-HT2 receptors during depression and self-harm / J.H. Meyer, S. McMain, S.H. Kennedy, L. Korman, G.M. Brown, J.N. DaSilva, A.A. Wilson, T. Blak, R. Eynan-Harvey, V.S. Goulding, S. Houle, P. Links // Am. J. Psychiatry. – 2003. – Vol. 160. – N 1. – P. 90-99.
125. Milbrandt, J. Persephin, a novel neurotrophic factor related to GDNF and neurturin / J. Milbrandt, F.J. de Sauvage, T.J. Fahrner, R.H. Baloh, M.L. Leitner, M.G. Tansey, P.A. Lampe, R.O. Heuckeroth, P.T. Kotzbauer, K.S. Simburger, J.P. Golden, J.A. Davies, R. Vejsada, A.C. Kato, M. Hynes, D. Sherman, M. Nishimura, L.C. Wang, R. Vandlen, B. Moffat, R.D. Klein, K. Poulsen, C. Gray, A. Garces, E.M. Jr Johnson et al. // Neuron. – 1998. –Vol. 20. – N 2. – P. 245-253.
126. Miller, J.M. Elevated serotonin 1A binding in remitted major depressive disorder: evidence for a trait biological abnormality / J.M. Miller, K.G. Brennan, T.R. Ogden, M.A. Oquendo, G.M. Sullivan, J.J. Mann, R.V. Parsey // Neuropsychopharmacology. – 2009. – Vol. 34. – N 10. – P. 2275-2284.
127. Morris, R.G. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat / R.G. Morris // J. Neurosci. Methods. – 1984. – Vol. 11. – N 1. – P. 47-60.
128. Morris, R.G. Long-term potentiation and memory / R.G. Morris // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. – 2003. – Vol. 358. – N 1432. – P. 643-647.

129. Moore, M.W. Renal and neuronal abnormalities in mice lacking GDNF / M.W. Moore, R.D. Klein, I. Fariñas, H. Sauer, M. Armanini, H. Phillips, L.F. Reichardt, A.M. Ryan, K. Carver-Moore, A. Rosenthal // Nature. – 1996. – Vol. 382. – N 6586. – P. 76-79.
130. Mount, H.T. Glial cell line-derived neurotrophic factor promotes the survival and morphological differentiation of Purkinje cells / H.T. Mount, D.O. Dean, J. Alberch, C.F. Dreyfus, I.B. Black // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 1995. – Vol. 92. – N 20. – P. 9092-9096.
131. Muguruza, C. Evaluation of 5-HT2A and mGlu2/3 receptors in postmortem prefrontal cortex of subjects with major depressive disorder: effect of antidepressant treatment / C. Muguruza, P. Miranda-Azpiazu, R. Díez-Alarcia, B. Morentin, J. González-Maeso, L.F. Callado, J.J. Meana // Neuropharmacology. – 2014. – Vol. 86. – P. 311-318.
132. Mulligan, L.M. RET revisited: expanding the oncogenic portfolio / L.M. Mulligan // Nat. Rev. Cancer. – 2014. – Vol. 14. – N 3. – P. 173-186.
133. Naumenko, V.S. The role of 5-HT2A receptor and 5-HT2A/5-HT1A receptor interaction in the suppression of catalepsy / V.S. Naumenko, D.V. Bazovkina, E.M. Kondaurova, E.A. Zubkov, A.V. Kulikov // Genes Brain Behav. — 2010. — Vol. 9. — N 5. — P. 519-524.
134. Naumenko, V.S. Effect of GDNF on depressive-like behavior, spatial learning and key genes of the brain dopamine system in genetically predisposed to behavioral disorders mouse strains / V.S. Naumenko, E.M. Kondaurova, D.V. Bazovkina, A.S. Tsybko, T.V. Ilchibaeva, N.V. Khotskin, A.A. Semenova, N.K. Popova // Behav. Brain Res. – 2014. – Vol. 274. – P. 1-9.
135. Naumenko, V.S. Effect of brain-derived neurotrophic factor on behavior and key members of the brain serotonin system in genetically predisposed to behavioral disorders mouse strains / V.S. Naumenko, E.M. Kondaurova, D.V. Bazovkina, A.S. Tsybko, M.A. Tikhonova, A.V. Kulikov, N.K. Popova // Neuroscience. – 2012. – Vol. 214. – P. 59-67.
136. Nicolas, L.B. A combined marble burying-locomotor activity test in mice: a practical screening test with sensitivity to different

classes of anxiolytics and antidepressants / L.B. Nicolas, Y. Kolb, E.P. Prinssen // Eur. J. Pharmacol. – 2006. – Vol. 547. – N 1-3. – P. 106-115.

137. Ornstein, K. Pinch-induced catalepsy in mice / K. Ornstein, S. Amir // J. Comp. Physiol. Psychol. — 1981. — Vol. 95. — N 5. — P. 827-835.
138. Otsuki, K. Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression / K. Otsuki, S. Uchida, T. Watanuki, Y. Wakabayashi, M. Fujimoto, T. Matsubara, H. Funato, Y. Watanabe // J. Psychiatr. Res. – 2008. – Vol. 42. – N 14. – P. 1145-1153.
139. Overstreet, D.H. Further selection of rat lines differing in 5-HT-1A receptor sensitivity: behavioral and functional correlates / D.H. Overstreet, A.H. Rezvani, D.J. Knapp, F.T. Crews, D.S. Janowsky // Psychiatr. Genet. – 1996. – Vol. 6. – N 3. – P. 107-117.
140. Pallavi, P. Serum neurotrophic factors in adolescent depression: gender difference and correlation with clinical severity / P. Pallavi, R. Sagar, R.M. Mehta, S. Sharma, A. Subramanium, F. Shamshi, U. Sengupta, R. Qadri, R.M. Pandey, A.K. Mukhopadhyay // J. Affect. Disord. – 2013. – Vol. 150. – N 2. – P. 415-423.
141. Paratcha, G. The neural cell adhesion molecule NCAM is an alternative signaling receptor for GDNF family ligands / G. Paratcha, F. Ledda, C.F. Ibáñez // Cell. – 2003. – Vol. 113. – N 7. – P. 867-879.
142. Pascual, A.
Absolute requirement of GDNF for adult catecholaminergic neuron survival / A. Pascual, M. Hidalgo-Figueroa, J.I. Piruat, C.O. Pintado, R. Gómez-Díaz, J. López-Barneo // Nat. Neurosci. – 2008. – Vol. 11. – N 7. – P. 755-761.
143. Pedersen, L.M. Spinal cord long-term potentiation (LTP) is associated with increased dorsal horn gene expression of IL-1beta, GDNF and iNOS / L.M. Pedersen, L.M. Jacobsen, S. Mollerup, J. Gjerstad // Eur. J. Pain. – 2010. – Vol. 14. – N 3. – P. 255-260.
144. Pellow, S. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat / S. Pellow , P. Chopin , S.E. File , M. Briley // J. Neurosci. Methods. – 1985. – Vol. 14. – N. 3. – P. 149-167.

145. Pertusa, M. Expression of GDNF transgene in astrocytes improves cognitive deficits in aged rats / M. Pertusa, S. García-Matas, H. Mammeri, A. Adell, T. Rodrigo, J. Mallet, R. Cristòfol, C. Sarkis, C. Sanfeliu // Neurobiol. aging. – 2008. – Vol. 29. – N 9. – P. 1366-1379.
146. Pichel, J.G. Defects in enteric innervation and kidney development in mice lacking GDNF / J.G. Pichel, L. Shen, H.Z. Sheng, A.C. Granholm, J. Drago, A. Grinberg, E.J. Lee, S.P. Huang, M. Saarma, B.J. Hoffer, H. Sariola, H. Westphal // Nature. – 1996. – Vol. 382. – N 6586. – P. 73-76.
147. Piszczek, L. Serotonin 1A auto-receptors are not sufficient to modulate anxiety in mice / L. Piszczek, K. Schlax, A. Wyrzykowska, A. Piszczek, E. Audero, C. Thilo Gross // Eur. J. Neurosci. – 2013. – Vol. 38. – N 4. – P. 2621-2627.
148. Polyakova, M. BDNF as a biomarker for successful treatment of mood disorders: a systematic & quantitative meta-analysis / M. Polyakova, K. Stuke, K. Schuemberg, K. Mueller, P. Schoenknecht, M.L. Schroeter // J. Affect. Disord. – 2015. – Vol. 174. – P. 432-440.
149. Pong, K. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase activity blocks cellular differentiation mediated by glial cell line-derived neurotrophic factor in dopaminergic neurons / K. Pong, R.Y. Xu, W.F. Baron, J.C. Louis, K.D. Beck // J. Neurochem. – 1998. – Vol. 71. – N 5. – P. 1912-1919.
150. Popova, N.K. Targeting tryptophan hydroxylase 2 in affective disorder / N.K. Popova, A.V. Kulikov // Expert Opin. Ther. Targets. – 2010. – Vol. 14. – N 11. – P. 1259-1271.
151. Popova, N.K. Ameliorative effect of BDNF on prenatal ethanol and stress exposure-induced behavioral disorders / N.K. Popova, M.V. Morozova, V.S. Naumenko // Neurosci. Lett. – 2011. – Vol. 505. – N 2. – P. 82-86.
152. Popova, N.K. 5-HT1A receptor as a key player in the brain 5-HT system // N.K. Popova, V.S. Naumenko // Rev. Neurosci. – 2013. – Vol. 24. – N 2. – P. 191-204.
153. Porsolt, R.D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, M. Le Pichon, M. Jalfre // Nature. — 1977. — Vol. 266. — N 5604. — P. 730-732.

154. Poteryaev, D. GDNF triggers a novel ret-independent Src kinase family-coupled signaling via a GPI-linked GDNF receptor alpha1 / D. Poteryaev, A. Titievsky, Y.F. Sun, J. Thomas-Crusells, M. Lindahl, M. Billaud, U. Arumäe, M. Saarma // FEBS Lett. – 1999. – Vol. 463. – N 1-2. – P. 63-66.
155. Ramaswamy, S. Trophic factors therapy in Parkinson's disease / S. Ramaswamy, K.E. Soderstrom, J.H. Kordower // Prog. Brain Res. – 2009. – Vol. 175. – P. 201-216.
156. Ramer, M.S. Functional regeneration of sensory axons into the adult spinal cord / M.S. Ramer, J.V. Priestley, S.B. McMahon // Nature. – 2000. – Vol. 403. – N 6767. – P. 312-316.
157. Revilla, S. Lenti-GDNF gene therapy protects against Alzheimer's disease-like neuropathology in 3xTg-AD mice and MC65 cells / S. Revilla, S. Ursulet, M.J. Álvarez-López, M. Castro-Freire, U. Perpiñá, Y. García-Mesa, A. Bortolozzi, L. Giménez-Llort, P. Kaliman, R. Cristòfol, C. Sarkis, C. Sanfeliu // CNS Neurosci. Ther. – 2014. – Vol. 20. – N 11. – P. 961-972.
158. Richardson-Jones, J.W. Serotonin-1A autoreceptors are necessary and sufficient for the normal formation of circuits underlying innate anxiety / J.W. Richardson-Jones, C.P. Craige, T.H. Nguyen, H.F. Kung, A.M. Gardier, A. Dranovsky, D.J. David, B.P. Guiard, S.G. Beck, R. Hen, E.D. Leonardo // J. Neurosci. – 2011. – Vol. 31. – N 16. – P. 6008-6018.
159. Rosa, A.R. Increased serum glial cell line-derived neurotrophic factor immunocontent during manic and depressive episodes in individuals with bipolar disorder / A.R. Rosa, B.N. Frey, A.C. Andreazza, K.M. Ceresér, A.B. Cunha, J. Quevedo, A. Santin, C. Gottfried, C.A. Gonçalves, E. Vieta, F. Kapczinski // Neurosci. Lett. – 2006. – Vol. 407. – N 2. – P. 146-150.
160. Saavedra, A. Driving GDNF expression: the green and the red traffic lights / A. Saavedra, G. Baltazar, E.P. Duarte // Prog. Neurobiol. – 2008. – Vol. 86. – N 3. – P. 186-215.

161. Sánchez, M.P. Renal agenesis and the absence of enteric neurons in mice lacking GDNF / M.P. Sánchez, I. Silos-Santiago, J. Frisén, B. He, S.A. Lira, M. Barbacid // Nature. – 1996. – Vol. 382. – N 6586. – P. 70-73.
162. Savelieva, K.V. Genetic disruption of both tryptophan hydroxylase genes dramatically reduced serotonin and affects behavior in models sensitive to antidepressants / K.V. Savelieva, S. Zhao, V.M. Pogorelov, I. Rajan, Q. Yang, E. Cullinan, T.H. Lanthorn // PLoS One. – 2008. – Vol. 3. – N 10. – P. e3301.
163. Savitz, J. 5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder / J. Savitz, I. Lucki, W.C. Drevets // Prog. Neurobiol. – 2009. – Vol. 88. – N 1. – P. 17-31.
164. Sawada, H. Neuroprotective mechanism of glial cell line-derived neurotrophic factor in mesencephalic neurons / H. Sawada, M. Ibi, T. Kihara, M. Urushitani, M. Nakanishi, A. Akaike, S. Shimohama // J. Neurochem. – 2000. – Vol. 74. – N 3. – P. 1175-1184.
165. Shang, J. Antiapoptotic and antiautophagic effects of glial cell line-derived neurotrophic factor and and hepatocyte growth factor after transient middle cerebral artery occlusion in rats / J. Shang, K. Deguchi, T. Yamashita, Y. Ohta, H. Zhang, N. Morimoto, N. Liu, X. Zhang, F. Tian, T. Matsuura, H. Funakoshi, T. Nakamura, K. Abe // J. Neurosci. Res. – 2010. – Vol. 88. – N 10. – P. 2197-2206.
166. Shields, J. The role of 5-HT1A receptors in the behavioral responses associated with innate fear / J. Shields, J.A. King // Behav. Neurosci. – 2008. – Vol. 122. – N 3. – P. 611-617.
167. Shimizu, E. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants / E. Shimizu, K. Hashimoto, N. Okamura, K. Koike, N. Komatsu, C. Kumakiri, M. Nakazato, H. Watanabe, N. Shinoda, S. Okada, M. Iyo // Biol. Psychiatry. – 2003. – Vol. 54. – N 1. – P. 70-75.
168. Singerman, B. Malignant catatonia – a continuing reality / B. Singerman, R. Raheja // Ann. Clin. Psychiatry. — 1994. — Vol. 6. — N 4. — P. 259-266.
169. Slevin, J.T. Unilateral intraputamenal glial cell line-derived neurotrophic factor in patients with Parkinson disease: response to 1 year of treatment and 1 year of

withdrawal / J.T. Slevin, D.M. Gash, C.D. Smith, G.A. Gerhardt, R. Kryscio, H. Chebrolu, A. Walton, R. Wagner, A.B. Young // J. Neurosurg. – 2007. – Vol. 106. – N 4. – P. 614-620.

170. Slotnick, B.M. A stereotaxic atlas of the albino mouse forebrain / B.M. Slotnick, C.M. Leonard. – Rockville, MD: US Dept. of Health, Education and Welfare. – 1975. – 174 p.
171. Soler, R.M. Receptors of the glial cell line-derived neurotrophic factor family of neurotrophic factors signal cell survival through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in spinal cord motoneurons / R.M. Soler, X. Dolcet, M. Encinas, J. Egea, J.R. Bayascas, J.X. Comella // J. Neurosci. – 1999. – Vol. 19. – N 21. – P. 9160-9169.
172. Springer, J.E. Expression of GDNF mRNA in rat and human nervous tissue / J.E. Springer, X. Mu, L.W. Bergmann, J.Q. Trojanowski // Exp. Neurol. – 1994. – Vol. 127. – N 2. – P. 167-170.
173. Stain, D.J. Obsessive-compulsive disorder / D.J. Stein // Lancet. – 2002. – Vol. 360. – N 9330. – P. 397-405.
174. Steru, L. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice / L. Steru, R. Chermat, B. Thierry, P. Simon // Psychopharmacology. — 1985. — Vol. 85. — N 3. — P. 367-370.
175. Strelau, J. GDNF family members and their receptors: expression and functions in two oligodendroglial cell lines representing distinct stages of oligodendroglial development / J. Strelau, K. Unsicker // Glia. – 1999. Vol. 26. – N 4. – P. 291-301.
176. Strömberg, I. Glial cell line-derived neurotrophic factor is expressed in the developing but not adult striatum and stimulates developing dopamine neurons in vivo / I. Strömberg, L. Björklund, M. Johansson, A. Tomac, F. Collins, L. Olson, B. Hoffer, C. Humpel // Exp. Neurol. – 1993. – Vol. 124. – N 2. – P. 402-412.
177. Suliman, S. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) protein levels in anxiety disorders: systematic review and meta-regression analysis / S. Suliman, S.M. Hemmings, S. Seedat // Front. Integr. Neurosci. – 2013. – Vol. 7. – N 55.

178. Suter-Crazollara, C. GDNF is expressed in two forms in many tissues outside the CNS / C. Suter-Crazzolara, K. Unsicker // Neuroreport. – 1994. – Vol. 5. – N 18. – P. 2486-2488.
179. Suzuki, H. Prominent expression of glial cell line-derived neurotrophic factor in human skeletal muscle / H. Suzuki, A. Hase, Y. Miyata, K. Arahata, C. Akazawa // J. Comp. Neurol. – 1998. – Vol. 402. – N 3. – P. 303-312.
180. Suzuki, M. Direct muscle delivery of GDNF with human mesenchymal stem cells improves motor neuron survival and function in a rat model of familial ALS / M. Suzuki, J. McHugh, C. Tork, B. Shelley, A. Hayes, I. Bellantuono, P. Aebischer, C.N. Svendsen // Mol. Ther. – 2008. – Vol. 16. – N 12. – P. 2002-2010.
181. Takebayashi, M. Decreased levels of whole blood glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in remitted patients with mood disorders / M. Takebayashi, K. Hisaoka, A. Nishida, M. Tsuchioka, I Miyoshi, T. Kozuru, S. Hikasa, Y. Okamoto, H. Shinno, S. Morinobu, S. Yamawaki // Int. J. Neuropsychopharmacol. – 2006. – Vol. 9. – N 5. – P. 607-612.
182. Thomas, A. Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety / A. Thomas, A. Burant, N. Bui, D. Graham, L.A. Yuva-Paylor, R. Paylor // Psychopharmacology (Berl). – 2009. – Vol. 204. – N 2. – P. 361-373.
183. Tikhonova M.A. Hereditary catalepsy in mice is associated with the brain dysmorphology and altered stress response / M.A. Tikhonova, A.V. Kulikov, D.V. Bazovkina, E.A. Kulikova, A.S. Tsybko, E.Y. Bazhenova, V.S. Naumenko, A.E. Akulov, M.P. Moshkin, N.K. Popova // Behav. Brain Res. — 2013. — Vol. 243. — P. 53-60.
184. Tomac, A. Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by GDNF in vivo / A. Tomac, E. Lindqvist, L.F. Lin, S.O. Ogren, D. Young, B.J. Hoffer, L. Olson // Nature. – 1995a. – Vol. 373. – N 6512. – P. 335-339.
185. Tomac, A. Retrograde axonal transport of glial cell line-derived neurotrophic factor in the adult nigrostriatal system suggests a trophic role in the adult / A. Tomac, J. Widenfalk, L.F. Lin, T. Kohno, T. Ebendal, B. J. Hoffer, L. Olson // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1995b. – Vol. 92. – P. 8274-8278.

186. Trupp, M. Peripheral expression and biological activities of GDNF, a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons / M. Trupp, M. Rydén, H. Jörnvall, H. Funakoshi, T. Timmusk, E. Arenas, C.F. Ibáñez // J. Cell Biol. – 1995. – Vol. 130. – N 1. – P. 137-148.
187. Trupp, M. Functional receptor for GDNF encoded by the c-ret proto-oncogene / M. Trupp, E. Arenas, M. Fainzilber, A.S. Nilsson, B.A. Sieber, M. Grigoriou, C. Kilkenny, E. Salazar-Grueso, V. Pachnis, U. Arumäe // Nature. – 1996. – Vol. 381. – N 6585. – P. 785-789.
188. Trupp, M. Complementary and overlapping expression of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), c-ret proto-oncogene, and GDNF receptor-alpha indicates multiple mechanisms of trophic actions in the adult rat CNS / M. Trupp, N. Belluardo, H. Funakoshi, C.F. Ibáñez // J. Neurosci. – 1997. – Vol. 17. – N 10. – P. 3554-3567.
189. Trupp, M. Ret-dependent and -independent mechanisms of glial cell line-derived neurotrophic factor signaling in neuronal cells / M. Trupp, R. Scott, S.R. Whittemore, C.F. Ibáñez // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274. – N 30. – P. 20885-20894.
190. Tsuchioka, M. Serotonin (5-HT) induces glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) mRNA expression via the transactivation of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in rat C6 glioma cells / M. Tsuchioka, M. Takebayashi, K. Hisaoka, N. Maeda, Y. Nakata // J. Neurochem. – 2008. – Vol. 106. – N 1. – P. 244-257.
191. Tunca, Z. Diverse glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) support between mania and schizophrenia: a comparative study in four major psychiatric disorders / Z. Tunca, B. Kıvırcık Akdede, A. Özerdem, T. Alkın, S. Polat, D. Ceylan, M. Bayın, N. Cengizçetin Kocuk, S. Şimşek, H. Resmi, P. Akan // Eur. Psychiatry. – 2015. – Vol. 30. – N 2. – P. 198-204.
192. Ubhi, K. Fluoxetine ameliorates behavioral and neuropathological deficits in a transgenic model mouse of α-synucleinopathy / K. Ubhi, C. Inglis, M. Mante, C.

Patrick, A. Adame, B. Spencer, E. Rockenstein, V. May, J. Winkler, E. Masliah // Exp. Neurol. – 2012. – Vol. 234. - N 2. – P. 405-416.

193. Uchida, S. Epigenetic status of Gdnf in the ventral striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events / S. Uchida, K. Hara, A. Kobayashi, K. Otsuki, H. Yamagata, T. Hobara, T. Suzuki, N. Miyata, Y. Watanabe // Neuron. – 2011. – Vol. 69. – N 2. – P. 359-372.
194. Vaidya, V.A. Role of 5-HT2A receptors in the stress-induced down-regulation of brain-derived neurotrophic factor expression in rat hippocampus / V.A. Vaidya, R.M. Terwilliger, R.S. Duman // Neurosci. Lett. – 1999. – Vol. 262. – N 1. – P. 1-4.
195. Vermeire, S. Serotonin 2A receptor, serotonin transporter and dopamine transporter alterations in dogs with compulsive behaviour as a promising model for human obsessive-compulsive disorder / S. Vermeire, K. Audenaert, R. De Meester, E. Vandermeulen, T. Waelbers, B. De Spiegeleer, J. Eersels, A. Dobbeleir, K. Peremans // Psychiatry Res. – 2012. – Vol. 201. – N 1. – P. 78-87.
196. Walsh, R.N. The Open-Field Test: A Critical Review / R.N. Walsh, R.A. Cummins // Psychol. Bull. – 1976. – Vol. 83. – N 3. – P. 482-504.
197. Walther, D.J. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform / D.J. Walther, J.U. Peter, S. Bashammakh, H. Hörtnagl, M. Voits, H. Fink, M. Bader // Science. – 2003. – Vol. 299. – N 5603. – P. 76.
198. Wang, Y. Effects of transplanted GDNF gene modified marrow stromal cells on focal cerebral ischemia in rats / Y. Wang, T. Geng, A. Ni, H. Yin, B. Han // Front. Integr. Neurosci. – 2011a. – Vol. 5. – Article. 89.
199. Wang, X. Association study between plasma GDNF and cognitive function in late-onset depression / X. Wang, Z. Hou, Y. Yuan, G. Hou, Y. Liu, H. Li, Z. Zhang // J. Affect. Disord. – 2011b. – Vol. 132. – N 3. – P. 418-421.
200. Wang, Y. Glial cell line-derived neurotrophic factor protects against ischemia-induced injury in the cerebral cortex / Y. Wang, S.Z. Lin, A.L. Chiou, L.R. Williams, B.J. Hoffer // J. Neurosci. – 1997. – Vol. 17. – N 11. – P. 4341-4348.

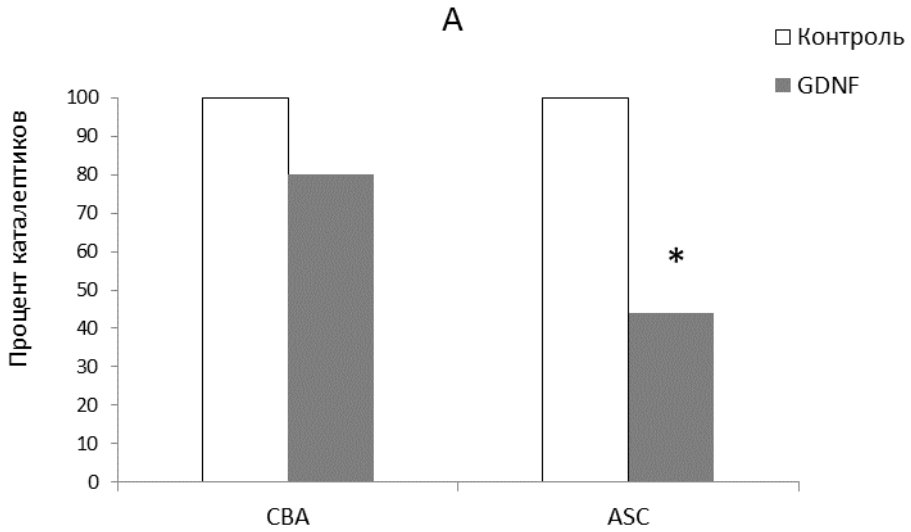
201. Wang, Y. GDNF triggers fiber outgrowth of fetal ventral mesencephalic grafts from nigra to striatum in 6-OHDA-lesioned rats / Y. Wang, L.T. Tien, P.A. Lapchak, B.J. Hoffer // Cell Tissue Res. – 1996. – Vol. 286. – N 2. – P. 225-233.
202. Wang, C.Y. Regulation of neuromuscular synapse development by glial cell line-derived neurotrophic factor and neurturin / C.Y. Wang, F. Yang, X.P. He, H.S. Je, J.Z. Zhou, K. Eckermann, D. Kawamura, L. Feng, L. Shen, B. Lu // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277. – N 12. – P. 10614-10625.
203. Weidner, K.L. Mice over-expressing BDNF in forebrain neurons develop an altered behavioral phenotype with age / K.L. Weidner, D.F. Buenaventura, K.K. Chadman // Behav. Brain Res. – 2014. – Vol. 268. – P. 222-228.
204. Weissmiller, A.M. Current advances in using neurotrophic factors to treat neurodegenerative disorders / A.M. Weissmiller, C. Wu // Transl. Neurodegener. – 2012. – Vol. 1. – N 1. – P. 14.
205. Willner, P. Animal models of depression: an overview / P. Willner // Pharmacol. Ther. – 1990. – Vol. 45. – N 3. – P. 425-455.
206. Worby, C.A. Glial cell line-derived neurotrophic factor signals through the RET receptor and activates mitogen-activated protein kinase / C.A. Worby, Q.C. Vega, Y. Zhao, H.H. Chao, A.F. Seasholtz, J.E. Dixon // J. Biol. Chem. – 1996. – Vol. 271. – N 39. – P. 23619-23622.
207. Yan, Q. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) promotes the survival of axotomized retinal ganglion cells in adult rats: comparison to and combination with brain-derived neurotrophic factor (BDNF) / Q. Yan, J. Wang, C.R. Matheson, J.L. Urich // J. Neurobiol. – 1999. – Vol. 38. – N 3. – P. 382-390.
208. Ylikoski, J. Guinea pig auditory neurons are protected by glial cell line-derived growth factor from degeneration after noise trauma / J. Ylikoski, U. Pirvola, J. Virkkala, P. Suvanto, X.Q. Liang, E. Magal, R. Altschuler, J.M. Miller, M. Saarma // Hear Res. – 1998. – Vol. 124. – N 1-2. – P. 17-26.
209. Yuan, M. Transplantation of neural stem cells overexpressing glial cell line-derived neurotrophic factor enhances Akt and Erk1/2 signaling and neurogenesis in rats after stroke / M. Yuan, S.J. Wen, C.X. Yang, Y.G. Pang, X.Q. Gao, X.Q.

Liu, L. Huang, Q.L. Yuan // Chin. Med. J. (Engl). – 2013. – Vol. 126. – N 7. – P. 1302-1309.

210. Zanardi, R. Increased 5-hydroxytryptamine-2 receptor binding in the frontal cortex of depressed patients responding to paroxetine treatment: a positron emission tomography scan study / R. Zanardi, F. Artigas, R. Moresco, C. Colombo, C. Messa, C. Gobbo, E. Smeraldi, F. Fazio // J. Clin. Psychopharmacol. – 2001. – Vol. 21. – N 1. – P. 53-58.
211. Zhang, X. Effect of treatment on serum glial cell line-derived neurotrophic factor in bipolar patients / X. Zhang, Z. Zhang, W. Sha, C. Xie, G. Xi, H. Zhou, Y. Zhang // J. Affect. Disord. – 2010. – Vol. 126. – N 1-2. –P. 326-329.
212. Zhang, X. Effect of treatment on serum glial cell line-derived neurotrophic factor in depressed patients / X. Zhang, Z. Zhang, C. Xie, G. Xi, H. Zhou, Y. Zhang, W. Sha // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2008. – Vol. 32. – N 3. – P. 886-890.
213. Zhou, J. Activation of postsynaptic 5-HT1A receptors improve stress adaptation / J. Zhou, X. Cao, A.C. Mar, Y.Q. Ding, X. Wang, Q. Li, L. Li // Psychopharmacology (Berl). – 2014. – Vol. 231. – N 10. – P. 2067-2075.
214. Zhu, X. Maternal deprivation-caused behavioral abnormalities in adult rats relate to a non-methylation-regulated D2receptor levels in the nucleus accumbens / X. Zhu, T. Li, S. Peng, X. Ma, X. Chen, X. Zhang // Behav. Brain. Res. – 2010. – Vol. 209. – N 2. – P. 281-188.
215. Zeng, F. Glial cell-derived neurotrophic factor enhances synaptic communication and 5-hydroxytryptamine 3a receptor expression in enteric neurons / F. Zeng, R.P. Watson, M.S. Nash // Gastroenterology. – 2010. – Vol. 138. – N 4. – P. 1491-1501.
216. Zifa, E. 5-Hydroxytryptamine receptors / E. Zifa, G. Fillion // Pharmacol. Rev. – 1992. – Vol. 44. – N 3. – P. 401-458.

Приложение

(рекомендуемое)



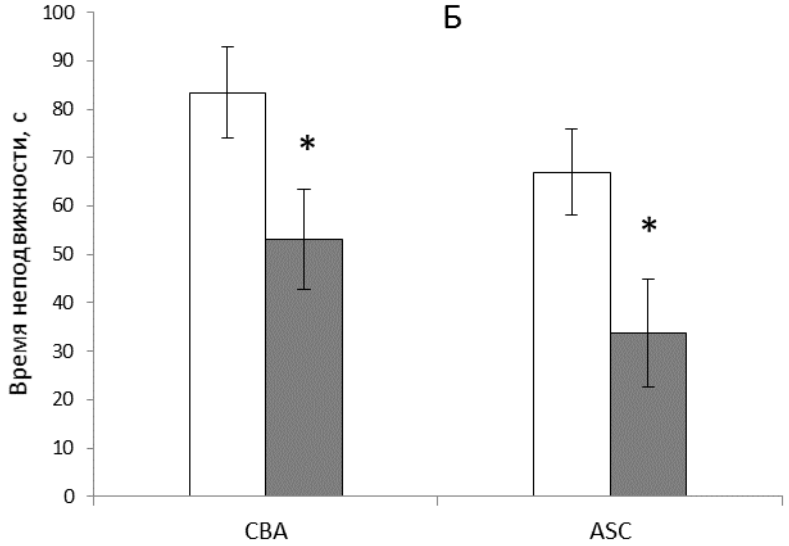


Рис.1. Влияние GDNF на процент мышей-каталептиков (А) и на время неподвижности (Б) мышей линий CBA и ASC в тесте на каталепсию.
*n = 8-11; * p < 0.05 по сравнению с контрольной группой этой же линии.*

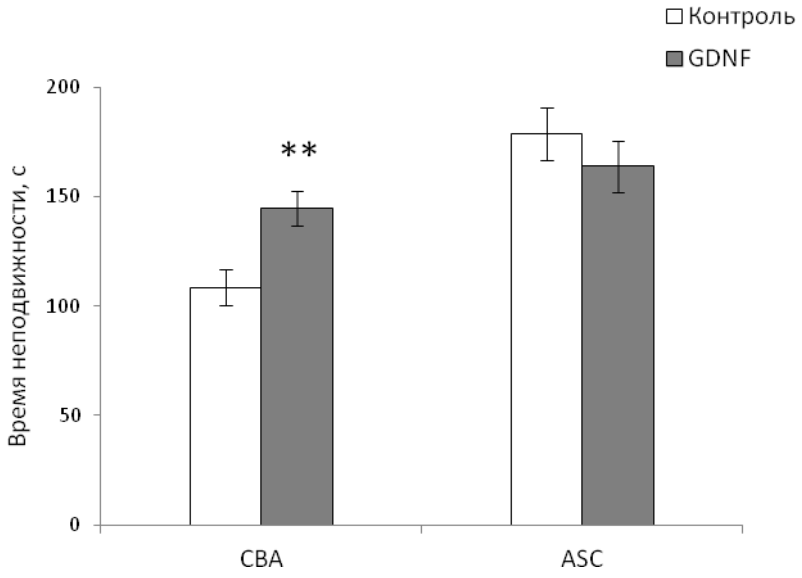


Рис.2. Влияние GDNF на поведение мышей линий CBA и ASC в тесте «подвешивание за хвост».
*n = 8-11; ** p < 0.01 по сравнению с контрольной группой этой же линии.*

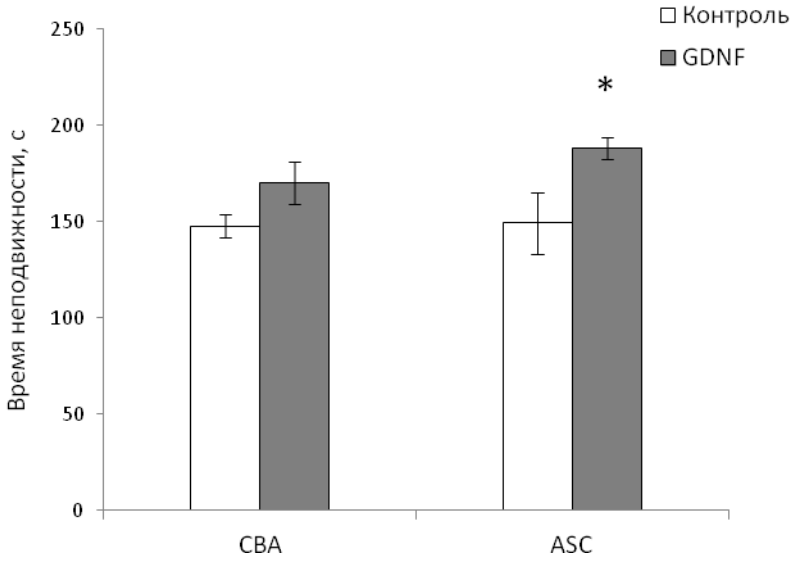


Рис.3. Влияние GDNF на поведение мышей линий CBA и ASC в тесте принудительного плавания.
*n = 10-11; ** p < 0.01 по сравнению с контрольной группой этой же линии.*

Таблица 1. Влияние GDNF на поведение мышей CBA и ASC в тесте «открытое поле».

Линия мышей	Препарат	Пройденный путь, см	Время в центре арены, %	Число вертикальных стоек	Число актов умывания	Продолжительность умываний, с
CBA	Контроль	621.3 ± 65.3	7.4 ± 2.1	8.1 ± 2.3	1.7 ± 0.3	6.5 ± 0.8
	GDNF	782.7 ± 52.6	15.4 ± 1.8 **	12.7 ± 1.9	2.6 ± 0.4	8.7 ± 2.3
ASC	Контроль	409.0 ± 84.8	3.66 ± 1.48	2.25 ± 1.84	1.86 ± 0.58	4.02 ± 1.94
	GDNF	629.1 ± 57.4*	8.76 ± 2.66	5.56 ± 1.16	2.56 ± 0.50	3.59 ± 0.41

*n = 8-11; *p < 0.05, **p < 0.01 по сравнению с контрольной группой той же линии.*

Таблица 2. Влияние GDNF на поведение мышей CBA и ASC в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

Линия мышей	Группа	Число заходов в открытые рукава	Время в открытых рукавах, с	Число заходов в закрытые рукава	Время в закрытых рукавах, с	Число выглядываний из закрытых рукавов	Число заглядываний вниз
CBA	Контроль	1.5 ± 0.7	34.3 ± 15.7	3.7 ± 0.6	213.6 ± 22.2	10.3 ± 1.1	5.5 ± 1.6
	GDNF	1.9 ± 0.4	35.1 ± 23.6	6.3 ± 1.1*	221.8 ± 20.4	12.5 ± 1.5	8.2 ± 1.5
ASC	Контроль	0.6 ± 0.3	6.9 ± 3.8	3.1 ± 0.7	276.2 ± 6.8	9.3 ± 2.0	3.3 ± 1.3
	GDNF	3.4 ± 0.6***	27.5 ± 5.2**	5.3 ± 1.3	246.6 ± 10.1*	9.3 ± 1.0	11.9 ± 1.8**

*n =8-11; * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 по сравнению с контрольной группой той же линии.*

Таблица 3. Влияние GDNF на поведение мышей CBA и ASC в тесте «свет-темнота».

Линия мышей	Препарат	Латентное время захода в темный отсек, с	Число заходов в темный отсек	Время в темном отсеке, с	Число выглядываний в светлый отсек
CBA	Контроль	113.5 ± 22.7	5.9 ± 0.8	138.3 ± 19.8	5.2 ± 1.5
	GDNF	138.3 ± 27.4	4.5 ± 1.1	83.2 ± 21.5	2.0 ± 0.7
ASC	Контроль	36.0 ± 8.2	5.0 ± 0.5	226.0 ± 12.8	4.5 ± 0.7
	GDNF	74.6 ± 16.8	5.1 ± 0.9	160.0 ± 23.5*	6.6 ± 1.5

*n = 10-11; *p < 0.05 по сравнению с контрольной группой той же линии*

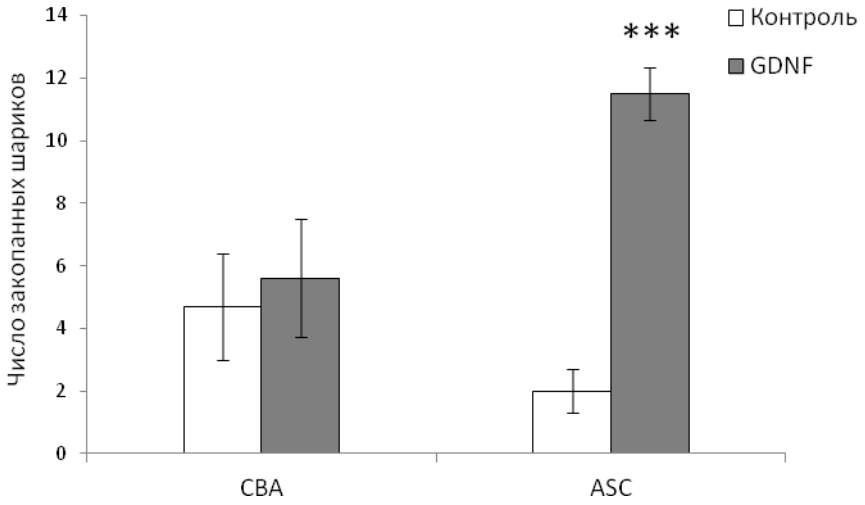


Рис.4. Влияние GDNF на поведение мышей CBA и ASC в тесте «закапывание шариков».
*n = 10 во всех группах; *** p < 0.001 по сравнению с контрольной группой той же линии.*

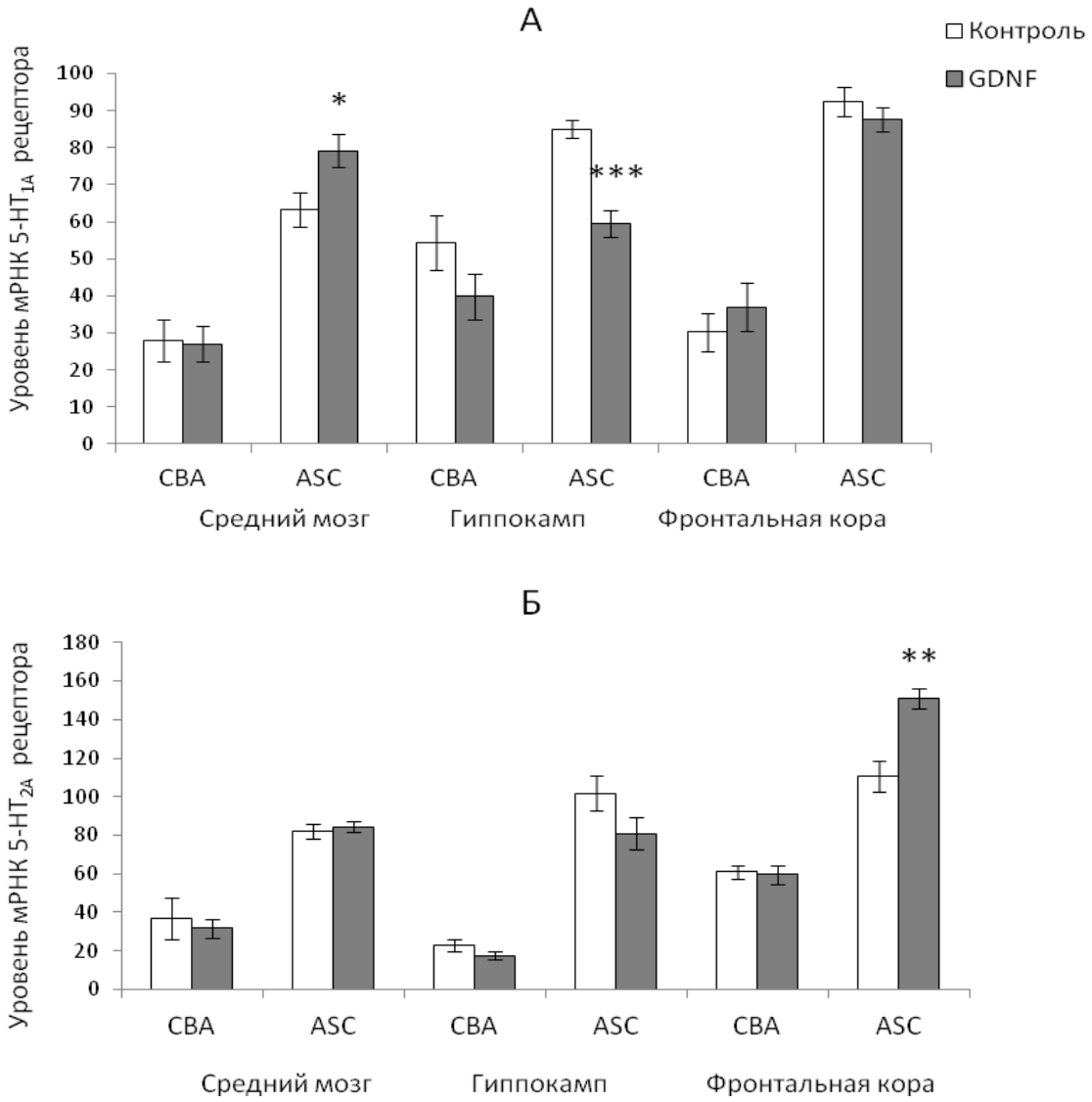


Рис.5. Влияние GDNF на экспрессию 5-HT_{1A} рецепторов (А) и 5-HT_{2A} рецепторов (Б) в мозге мышей CBA и ASC.

*n = 6-8; *p < 0.05, **p < 0.01, *** p < 0.001 по сравнению с мышами соответствующей контрольной группы.*

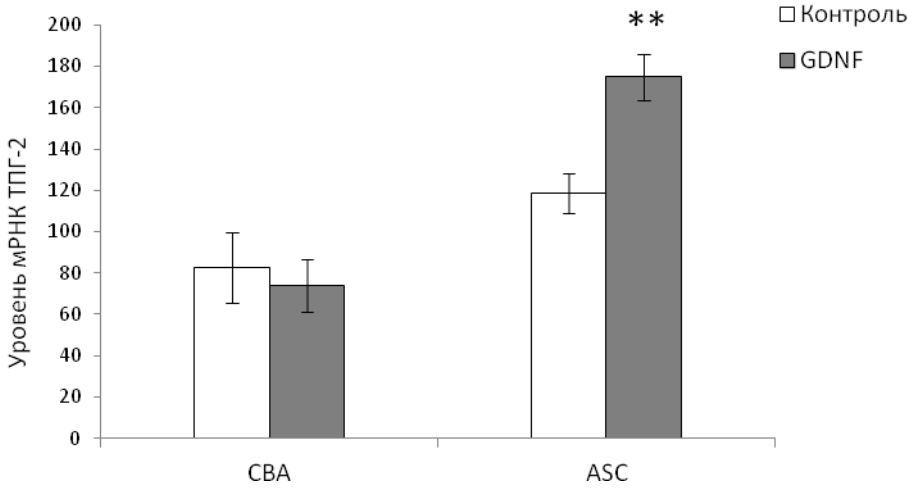


Рис.6. Влияние GDNF на экспрессию ТПГ-2 в среднем мозге мышей линии CBA и ASC.

*n = 6-8; *p < 0.01 по сравнению с контрольной группой той же линии.*