

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

на правах рукописи

ИЛЬЧИБАЕВА ТАТЬЯНА ВИТАЛЬЕВНА

**ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОЕ АГРЕССИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ
И НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ МОЗГА**

(03.03.01– физиология по биологическим наукам)

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор биологических наук
В. С. Науменко

Новосибирск-2017

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- 5-НТ – 5-гидрокситриптамин, серотонин;
- 5-НТ_{1A} – серотониновые рецепторы 1A подтипа;
- 5-НТ_{1B} – серотониновые рецепторы 1B подтипа;
- 5-НТ_{2A} – серотониновые рецепторы 2A подтипа;
- 5-НТТ – серотониновый транспортер;
- 6-ОНДА – 6-гидроксидофамин;
- ГАМК – гамма-аминомасляная кислота;
- ДА – дофамин;
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;
- кДНК – комплементарная ДНК;
- МАО А – моноаминоксидаза А;
- мРНК – матричная РНК;
- НА – норадреналин;
- НТФ – нейротрофический фактор;
- ПЦР – полимеразная цепная реакция;
- ТГ – тирозингидроксилаза;
- ТПГ-2 – триптофангидроксилаза-2;
- ЦНС – центральная нервная система;
- ЭПР – эндоплазматический ретикулум;
- AAV – (adeno-associated virus) аденоассоциированный вирус;
- AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor) – α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота;
- BAX – (bcl-2-like protein) – bcl-2-подобный белок;
- BDNF (brain derived neurotrophic factor) – нейротрофический фактор мозга;
- CDNF (cerebral dopamine neurotrophic factor) – дофаминовый нейротрофический фактор мозга;
- COMT (Catechol-O-methyl transferase) – катехол-О-метилтрансфераза;
- GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) – глиальный нейротрофический фактор;

GFR α (GDNF family receptor- α) – семейство корцепторов GDNF

CRF (corticotrophin-releasing factor) – кортикотропин-релизинг фактор;

MANF – (mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor) - мезэнцефалический астроцитарный нейротрофический фактор;

MPTP – (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) – 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин;

NMDA – N-метил-D-аспартат ионотропный рецептор глутамата

rPol II – ДНК-зависимая РНК-полимераза II;

RET – рецепторная тирозин киназа;

TrkB – тирозинкиназный рецептор B;

UPR (unfolded protein response) - реакция развернутых белков;

UTR (untranslated region) – нетранслируемая область;

VTA – (ventral tegmental area) – вентральная область покрышки;

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	2
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ УЧАСТИИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ.....	11
1.1 Нейробиология агрессивного поведения.....	11
1.1.1 Агрессивное поведение и его типы.....	11
1.1.2 Молекулярные механизмы агрессивного поведения.....	14
1.2 Нейротрофические факторы и их участие в агрессивном поведении	19
1.2.1 Нейротрофический фактор мозга.....	21
1.2.2 Глиальный нейротрофический фактор.....	24
1.2.3 Дофаминовый нейротрофический фактор мозга	26
1.2.4 Взаимосвязь нейротрофических факторов и агрессивного поведения.	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	36
2.1 Экспериментальные животные.....	36
2.2 Поведенческие тесты	37
2.3 Количественная ОТ-ПЦР в реальном времени.	39
2.4 Вестерн блот анализ.....	40
2.5 Статистическая обработка результатов.	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	45
3.1 Связь защитно-оборонительной агрессии, с иными типами агрессивного поведения	45
3.2 Экспрессия BDNF в мозге крыс с генетической предрасположенностью к высокой агрессивности или к её отсутствию	48
3.3 Экспрессия GDNF в мозге крыс с генетической предрасположенностью к высокой агрессивности или к её отсутствию	51
3.4 Экспрессия CDNF в мозге крыс с генетической предрасположенностью к высокой агрессивности или к её отсутствию	55
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ	60
ВЫВОДЫ	71
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	73

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Агрессия является сложным социальным поведением. Данный тип поведения вызывает у ученых постоянный интерес, который периодически обостряется, что, по-видимому, связано с чисто социальными факторами (Попова и др., 1978). В современном человеческом обществе, где такие ресурсы, как еда, кров и т.д., в основном, неограничены, агрессия становится главной мировой культурной проблемой. Также немаловажным является тот факт, что многие нейродегенеративные и психиатрические заболевания ассоциированы с повышенной агрессивностью. Поэтому изучение механизмов возникновения и развития агрессивного поведения представляет собой крайне актуальную научную задачу.

Существует много определений агрессии и агрессивного поведения. Одно из них звучит как «открытое поведение, содержащее намерение причинить вред или действовать деструктивно по отношению к другому организму» (Volavka, 1995), другое как «некоторая форма поведения, направленная на причинение ущерба или вреда другому живому существу, которое заинтересовано избежать такого воздействия» (Baron, Richardson, 1994). Давно признано, что у животных существует много типов агрессии или агрессивного поведения. Они различаются по механизмам, вызывающим раздражителям, развитию, функциям и филогении. Агрессия, вызванная страхом, направлена на защиту от нападения хищника или человека и является защитно-оборонительной (*defensive aggression*) (Maxson, 2000). Данный вид агрессии, как правило, проявляется при отсутствии возможностей для развития реакции активного избегания и при отсутствии доминирующего типа агрессии (например, агрессия матери, защищающей потомство). Элиминирование данного типа агрессии представляет собой ключевой фактор в доместикации животных.

Уникальный, не имеющий аналогов в мире эксперимент по доместикации диких серых крыс привёл к созданию двух линий, абсолютно различных по выраженности защитно-оборонительной агрессии – неагрессивные ручные крысы и

крайне агрессивные крысы. (Naumenko et al, 1989; Blanchard et al., 1994; Плюснина, Соловьева, 2010). На ранних этапах селекции у этих крыс были оценены различные формы агрессивного поведения. В то время как были показаны очевидные различия в выраженности агрессии, вызванной страхом, никаких различий в уровне межсамцовой агрессии и агрессии хищника между неагрессивными и агрессивными крысами выявлено не было (Porova et al., 1993). Недавно было показано, что самки крыс, селекционированных на повышенную агрессивность по отношению к человеку или на её отсутствие не различаются по уровню материнской агрессии (Konoshenko, Plyusnina, 2012). Перекрестное вскармливание ручных крыс агрессивной матерью и агрессивных крыс неагрессивной матерью не оказало значительного эффекта на выраженность агрессивного поведения по отношению к человеку (Albert et al., 2008, Plyusnina et al., 2009), что говорит о сильной роли генотипа в регуляции агрессивности. Однако, остается неясным как генетическая предрасположенность к одному виду агрессивности связана с другими типами агрессивного поведения. Особый интерес вызывает важный вопрос, касающийся связи между патологической агрессией и другими видами агрессивного поведения.

Механизмы регуляции агрессивного поведения являются сложными и активно изучаются. В настоящее время известно о вовлечении серотонергической (5-НТ) и дофаминергической (ДА) систем (Rosell, Siever, 2015), а также нейропептидов и нейротрофических факторов (НТФ) (Takahashi et al, 2012) в регуляцию данного типа поведения. Существуют данные об участии нейротрофического фактора мозга (BDNF) в механизмах агрессивного поведения. В частности, мыши с глобальной делецией одного аллеля гена *Bdnf* (Lyons et al., 1999) или локальной делецией двух аллелей гена *Bdnf* в переднем мозге (Ito et al., 2011) демонстрируют усиление агрессии. Дефицит BDNF в эмбриональном мозге приводит к последующему развитию агрессивного поведения (Chan et al., 2006). С другой стороны, в работе Lang с соавторами (2009) показан более высокий уровень белка BDNF в гиппокампе и коре высокоагрессивных мышей АВН по сравнению с неагрессивными мышами линии АВГ. Также показано, что центральное введение BDNF может приводить к усилению межсамцовой агрессии у мышей (Naumenko et al., 2014).

Таким образом, данные об участии BDNF в регуляции агрессивного поведения немногочисленны и противоречивы. Существует очевидная нехватка данных о взаимосвязи генетически детерминированного агрессивного поведения и экспрессии BDNF. Ничего неизвестно об участии предшественника BDNF – proBDNF в регуляции данного типа поведения.

В отличие от BDNF, такие НТФ, как глиальный нейротрофический фактор (GDNF) и дофаминовый нейротрофический фактор (CDNF), никогда не изучались во взаимосвязи с агрессивным поведением. Особенностью данных НТФ является их участие в дифференцировке, росте, выживании и восстановлении ДА нейронов (Saavedra et al, 2008; Lindholm, Saarma, 2010). А так как ДА система участвует в регуляции агрессивного поведения, то изучение GDNF и CDNF, а также их белков-предшественников представляет значительный интерес.

Цель и задачи исследования: Целью данной работы стало изучение экспрессии нейротрофического фактора мозга (BDNF), глиального нейротрофического фактора (GDNF) и дофаминового нейротрофического фактора мозга (CDNF) у крыс с генетически детерминированным защитно-оборонительным агрессивным поведением.

В соответствии с целью были сформулированы следующие задачи:

- 1) Характеристика выраженности различных типов агрессивного поведения у крыс с генетически детерминированной защитно-оборонительной агрессией;
- 2) Изучить уровни мРНК генов *Bdnf*, *Gdnf* и *Cdnf* у крыс с высоким уровнем агрессии по отношению к человеку, либо с её отсутствием;
- 3) Исследовать уровни белков BDNF, GDNF и CDNF в структурах мозга крыс с генетической предрасположенностью к высокой агрессивности или её отсутствию;
- 4) Определить уровни белков предшественников proBDNF, proGDNF и proCDNF у крыс с генетически детерминированным защитно-оборонительным агрессивным поведением.

Научная новизна:

❖ впервые обнаружены различия в патологической и хищнической агрессии у крыс с генетической предрасположенностью к высокой агрессивности или её отсутствию. У высокоагрессивных крыс наблюдается усиление агрессии хищника и асоциального патологического поведения.

❖ впервые выявлено повышение экспрессии нейротрофического фактора BDNF и его белка-предшественника proBDNF в структурах мозга крыс, демонстрирующих высокий уровень агрессии, вызванной страхом. В частности, у высокоагрессивных крыс было обнаружено существенное увеличение экспрессии BDNF в миндалевидном комплексе и гиппокампе, которые ответственны за фиксацию памяти о страхе и поражении, а также в прилежащих ядрах, контролирующих социальное избегание и готовность к агонистическим взаимодействиям.

❖ впервые показано вовлечение нейротрофического фактора GDNF, его проформы proGDNF, а также димера зрелой формы GDNF в механизмы агрессивного поведения.

❖ впервые обнаружено усиление экспрессии CDNF и его предшественника preCNDNF в ряде структур головного мозга крыс с генетически детерминированной агрессией, вызванной страхом, что является первым свидетельством вовлечения данного НТФ в механизмы регуляции агрессии, как формы поведения.

❖ впервые выявлено увеличение экспрессии НТФ разных семейств (BDNF, GDNF и CDNF), в ключевой серотониновой структуре – области ядер шва среднего мозга – у высокоагрессивных крыс, что предполагает необходимость нейротрофической поддержки 5-НТ системы при генетически детерминированном агрессивном поведении.

Научно-практическая ценность

Предложена новая нейротрофическая гипотеза регуляции агрессивного поведения. Данная гипотеза предполагает вовлечение НТФ в механизмы, лежащие в основе генетически детерминированной агрессии, и подразумевает необходимость трофической поддержки нейротрансмиттерных систем,

вовлеченных в агрессию. Поскольку ряд нейродегенеративных и психических заболеваний сопряжен с повышенной агрессивностью, данные о вовлечении НТФ в её механизмы позволят выработать новые подходы и стратегии коррекции патологической агрессии.

Также полученные данные будут использоваться в курсе лекций «Молекулярные и клеточные основы нейропластичности» для магистрантов факультета естественных наук Новосибирского государственного университета.

Положения, выносимые на защиту

- 1) Обнаружено усиление хищнической и патологической агрессии у крыс с высоким уровнем генетически детерминированного защитно-оборонительного агрессивного поведения.
- 2) Генетически детерминированное агрессивное поведение связано с усилением экспрессии BDNF, что выражается в повышении уровня мРНК гена *Bdnf*, а также уровня белка proBDNF и зрелой формы BDNF.
- 3) Наблюдаются значительные различия как в уровнях мРНК, так и в уровне мономерной и димерной форм зрелого белка GDNF, а также его предшественника proGDNF между ручными и агрессивными крысами, что указывает на вовлечение GDNF в механизмы генетически детерминированной агрессии.
- 4) У крыс с высоким уровнем защитно-оборонительной агрессии, вызванной страхом, наблюдается увеличение экспрессии CDNF в ряде структур головного мозга. Значительно увеличивается уровень мРНК гена *Cdnf* в большинстве исследованных структур мозга высокоагрессивных крыс, а также уровень белка предшественника preCDNF в гиппокампе, гипоталамусе и зрелой формы CDNF во фронтальной коре.
- 5) Зрелая форма белка CDNF детектируется только в области ядер шва среднего мозга, гиппокампе, фронтальной коре и чёрной субстанции, тогда как preCDNF наблюдается во всех исследуемых структурах головного мозга.

Апробация работы

Результаты данной работы были представлены и обсуждены на: 17th Annual Meeting of the International Behavioural and Neural Genetics Society (Uppsala, Sweden, 2015), 10th Annual Canadian Neuroscience Meeting (Toronto, Canada, 2016), 10th FENS Forum of Neuroscience (Copenhagen, Denmark, 2016).

Публикации

Материал диссертации представлен в 9 публикациях, в том числе в 6 статьях в отечественных (2) и зарубежных (4) реферируемых журналах.

Благодарности

Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю д.б.н. В. С. Науменко; мужу, коллеге и лучшему напарнику для экспериментов к.б.н. А. С. Цыбко, а также к.б.н. Е. М. Кондауровой за помощь в освоении метода Вестерн блот анализа и Р. В. Кожемякиной за неоценимую помощь в проведении тестирования животных.

Структура и объем работы

Работа включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, выводы и список использованной литературы (237 источников). Общий объем составляет 101 машинописных листов. Представлено 17 рисунков и 6 таблиц.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ УЧАСТИИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ

1.1 Нейробиология агрессивного поведения

Агрессивное поведение наблюдается у многих видов животных, включая человека, и является эволюционно-закрепленной адаптивной формой поведения. В основе такого сложного биологического феномена лежит многофакторная система, включающая как средовой контекст (физические или социально-биологические характеристики среды), так и биологическую составляющую (генетический компонент и нейрохимическая регуляция) (Кудрявцева и др., 2014). В течение последних пяти десятилетий исследования в области нейробиологии агрессивного поведения двигались в направлении от признака к его молекулярным основам, благодаря чему был накоплен значительный базис знаний (Takahashi, Miczek, 2014), позволяющий не только комплексно подходить к пониманию агрессивного поведения, но и продолжать поиск новых биологических коррелятов агрессии.

1.1.1 Агрессивное поведение и его типы

Агрессивное поведение включает в себя целый ряд разнообразных поведенческих моделей и многомерно с точки зрения его происхождения, мотивации, выраженности и функций (Miczek et al, 2007). Независимо от распространенности и повсеместного употребления термина «агрессия» существуют трудности, связанные с определением этого понятия. К проявлениям агрессии, как её принято принимать в социологии и психиатрии, часто относят помимо открытых конфликтов другие разнообразные формы поведения, которые можно охарактеризовать как самоутверждение и соперничество (Takahashi, Miczek, 2014). Однако по отношению к агрессивному поведению животных до сих пор не существует единого общепринятого определения. Все имеющиеся определения агрессии либо относятся к подтипам агрессивного поведения, либо выражают её в широком смысле как «некая форма поведения, направленная на причинение вреда

либо повреждения другому живому существу, которое стремится избежать такого воздействия» (Baron, Richardson, 1994).

Агрессивное поведение подразделяется на несколько поведенческих типов. Обычно используемая классификация Мойера (Moyer, 1968) выделяет семь типов агрессии:

- 1) агрессия хищника при нападении на жертву,
- 2) внутривидовая агрессия самцов,
- 3) агрессия, вызванная страхом,
- 4) агрессия, вызванная раздражительностью или фрустрацией,
- 5) агрессия при защите территории,
- 6) материнская агрессия,
- 7) инструментальная агрессия.

Классификация, предложенная Максоном (Maxson, Canastar, 2007), основана на функциях агрессии и направлении атаки:

- защитно-оборонительная агрессия,
- агрессия нападения,
- агрессия, связанная с беременностью и вскармливанием потомства,
- детоубийство
- хищническая агрессия.

Обе эти классификации адекватно описывают главные типы агрессивного поведения животных, но классификация Максона включает важный вид патологического агрессивного поведения – детоубийство. Особый интерес вызывает защитно-оборонительная агрессия, вызванная страхом, которая направлена на защиту от нападения хищника или человека. Академиком Д. К. Беляевым в экспериментах на серебристо-черных лисицах (*Vulpes fulvus* Desm.) было показано, что элиминирование данного типа агрессии представляет собой ключевой фактор в доместикации животных (Belyaev, 1979).

Успехи, достигнутые в исследовании механизмов доместикации на серебристо-черных лисицах, стали основой для многолетней селекции диких серых крыс (*Rattus norvegicus*), проводимой в Институте цитологии и генетики СО РАН. Этот селекционный эксперимент позволил получить линии животных, существенно отличающихся по выраженности агрессивного поведения по

отношению к человеку (Naumenko et al, 1989; Blanchard et al., 1994; Плюснина, Соловьева, 2010). Признак, по которому в течение уже более 85 поколений ведется селекция крыс пасюков, рассматривается как агрессия, вызванная страхом. Данный признак отчётливо проявляется уже на 15 день постнатального развития, хотя в этом возрасте сила реакции выражена слабее, чем у взрослых крыс (Naumenko et al., 2013). Эксперимент с перекрёстным вскармливанием показал, что агрессивные крысы, вскормленные неагрессивными самками, не перестают демонстрировать агрессивную реакцию по отношению к человеку, что убедительно доказывает значительную генетическую детерминированность признака, по которому велась селекция (Plusnina et al., 2009). Однако селекционированные агрессивные животные демонстрируют высокий уровень агрессии не только по отношению к человеку, но и по отношению к другим крысам в зоосоциальных взаимодействиях, в частности имеют значительно более высокий уровень межвидовой (интраспецифичной) агрессии, чем ручные животные (Plusnina et al., 2011). Также показано, что ручные и агрессивные крысы отличаются друг от друга и по многим другим поведенческим и физиологическим характеристикам, таким как тревожность, двигательная активность, исследовательское поведение, а также уровнями моноаминов, аминокислот и гормонов (Albert et al, 2008, Гулевич и др., 2015). Как на ранних, так и на более поздних этапах селекции у высокоагрессивных крыс отмечались повышенный уровень кортикостерона в сыворотке крови, сниженный метаболизм 5-НТ, экспрессия и плотность 5-НТ_{1A} рецепторов, повышенные уровни глутамината, аспартата, фосфорилэтанолamina и лактата в мозге и, наоборот, сниженные уровни N-ацетиласпартата, креатинина и фосфокреатинина, а также изменение иммунного статуса (Naumenko et al., 1989; Plusnina, Oskina, 1997; Плюснина и др., 2003; Popova et al., 1998, 2005; Albert et al., 2008; Naumenko et al., 2013; Гулевич и др., 2015; Idova et al., 2015; Kondaurova et al., 2016). В то же время, в одной из последних работ (Кожемякина и др., 2016) показано, что по уровню страха и тревожности в тесте открытого поля агрессивные крысы перестали отличаться от ручных. Также недавно было обнаружено, что исчезли ранее присутствовавшие различия по уровню кортикостерона между ручными и агрессивными животными (Прасолова и др., 2014). И то и другое, как предполагается, связано с адаптацией к жизни в условиях вивария, которые

создают дополнительное давление отбора в течение многих десятков поколений селекции (Кожемякина и др., 2016). Тем не менее, высокоагрессивные крысы-пасюки, с их значительными нейрохимическими и молекулярными изменениями в мозге, представляют собой уникальную и перспективную модель для изучения молекулярных механизмов агрессии.

1.1.2 Молекулярные механизмы агрессивного поведения

Многочисленные исследования в области биологии агрессии показали, что разнообразные нейротрансмиттерные системы, возбуждающие и тормозящие аминокислоты, а также нейропептиды вносят значительный вклад в регуляцию данного типа поведения.

Одной из первых теорий агрессии стала гипотеза «лимбического дисконтроля». Она объясняла агрессивное поведение как результат дисбаланса между процессами возбуждения и торможения в лимбических областях головного мозга (Agrawal et al., 1967; Miczek et al, 2007). В поддержку этой гипотезы свидетельствуют результаты работ, выявивших высокие уровни глутамата и низкие уровни гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) как в целом мозге, так и в отдельных его структурах у агрессивных животных по сравнению с неагрессивными (Simler et al, 1982; Гулевич и др., 2015). Более того, фармакологически сниженный уровень глутамата или повышенный ГАМК ингибирует некоторые виды агрессивного поведения (Puglisi-Allegra et al, 1981; Lumley et al, 2004). Также фармакологические и генетические исследования показали, что почти все подтипы глутаматных (NMDA, AMPA, каинатные и метаботропные mGluRs) рецепторов (Belozertseva, Beshpalov, 1999; Vekovischeva et al, 2004; Navarro et al, 2008; Newman et al, 2012), а также ГАМК-рецепторов (GABA_A и GABA_B) (Miczek et al, 2003; Rudissaar et al, 2000; Takahashi et al, 2012b) вовлечены в агрессию. Однако роль каждого из этих рецепторов может варьировать в зависимости от локализации, субъединиц в их составе и типа исследуемого агрессивного поведения (Takahashi, Miczek, 2014). Также стоит отметить, что, несмотря на значительный массив данных, зачастую они противоречат друг другу.

Роль таких биогенных аминов, как норадреналин (НА), 5-НТ и ДА уже долгое время изучается в нейробиологии агрессивного поведения. Главной функцией НА системы является реализация реакции типа «бей или беги» в ответ на стрессирующее воздействие (Gu et al, 2016). Состояние конфронтации между индивидами характеризуется повышенной активностью НА как в ЦНС, так и на периферии. Активация НА системы является необходимым условием реализации агрессивного поведения, но не специфичным для агонистических взаимодействий (Miczek et al, 2007).

При изучении агрессивного поведения большое значение уделяется роли серотонергической системы. Огромное количество исследований выявило ряд молекулярных компонентов 5-НТ системы, вовлеченных в агрессию, которые можно разделить по механизму влияния на данный тип поведения: (1) ключевые ферменты синтеза и деградации 5-НТ, а также транспортер 5-НТ, (2) 5-НТ рецепторы (Popova, 2006; Rosell, Siever, 2015).

Как известно, триптофангидроксилаза-2 (ТПГ-2) является ключевым ферментом биосинтеза 5-НТ в мозге. Так, было показано, что мыши с полиморфизмом С1437G в гене ТПГ-2, характеризующиеся сниженной активностью данного фермента, демонстрируют более низкий уровень межсамцовой агрессии (Osipova et al, 2009). В то же время животные с полным нокаутом по гену, кодирующему ТПГ-2, демонстрируют высокие уровни агрессии (Mosienko et al, 2012). Таким образом, как низкий уровень активности фермента, так и полное его отсутствие влияют на агрессивность, но противоположным образом, что, скорее всего, объясняется различиями в развитии организма при отсутствии или недостатке фермента.

Серотониновый транспортер (5-НТ transporter, 5-НТТ) играет основную роль в удалении внеклеточного 5-НТ из синаптической щели (Piñeyro, Blier, 1999; Rudnick et al, 2014). Существует множество литературных данных, полученных как на мышах, так и на людях, которые свидетельствуют об участии 5-НТТ в агрессивном поведении (Popova, 2006; Rosell, Siever, 2015). Так, в работе на мутантных мышах с выключенным геном, кодирующим 5-НТТ, было показано снижение агрессии у гомозиготных нокаутных животных по сравнению с диким типом (Holmes et al, 2002). Также, у крыс с высоким уровнем агрессии по

отношению к человеку, выявлено выраженное снижение уровня мРНК гена, кодирующего 5-НТТ, во фронтальной коре по сравнению с неагрессивными животными (Науменко, 2009). Генетические работы хорошо дополняются фармакологическими исследованиями с ингибиторами 5-НТТ (например, флуоксетином) в различные периоды развития. Интересно, что агрессивность взрослых мышей, которых подвергали воздействию флуоксетина в течение раннего постнатального периода, снижается (Yu et al, 2014). В то же время было продемонстрировано усиление агрессивности у самцов потомков мышей, которых подвергали во время беременности влиянию флуоксетина (Kiryanova, Dusk, 2014). Таким образом, ингибирование 5-НТТ в раннем постнатальном периоде приводит к отличным от подобного воздействия в пренатальном периоде изменениям в агрессивности. Исследования на человеке в основном заключаются в изучении связи различных вариантов промоторного региона гена 5-НТТ с проявлениями агрессивного поведения (Rosell, Siever, 2015).

Моноаминоксидаза А (МАО А) является катаболическим ферментом и его главный субстрат представлен главным образом 5-НТ и в меньшей степени норадреналином и дофамином (Godar et al, 2016). Редкая миссенс-мутация в 8 экзоне гена МАО А была обнаружена в датской семье со значительными проявлениями импульсивной агрессии в череде поколений. Таким образом, МАО А стал одним из первых генов, который был определен как играющий роль в наследуемости импульсивной агрессии (Brunner et al, 1993). Также увеличение агрессии наблюдалось как у нокаутных по гену МАО А мышей (Cases et al, 1995), так и у мышей с естественной мутацией в 8 экзоне данного гена (Scott et al, 2008), которая очень похожа на редкую миссенс-мутацию, наблюдаемую у датской семьи.

Среди множества подтипов 5-НТ рецепторов, главным образом первые два семейства рецепторов (5-НТ₁ и 5-НТ₂) были изучены в отношении их роли в агрессии. Известно, что системное введение агонистов 5-НТ_{1A} рецептора дозозависимо снижает выраженность агрессивного поведения (de Voer et al, 2000; de Voer, Koolhaas, 2005). У крыс-пасюков, селекционированных на высокий уровень агрессии, вызванной страхом, было отмечено снижение плотности 5-НТ_{1A} рецепторов в гипоталамусе, фронтальной коре и миндалевидном комплексе, понижение уровня мРНК данных рецепторов в среднем мозге, а также обнаружена

десенситизация 5-НТ_{1А} рецепторов по сравнению с неагрессивными животными (Porova et al, 2005; Попова, Науменко, 2010). В то же время животные с нокаутом по гену, кодирующему данный подтип рецепторов (*Htr1a*^{-/-}), демонстрируют низкоагрессивное поведение (Zhuang et al, 1999). Также у мышей, селекционированных на сниженное латентное время первой атаки, значительно повышен уровень мРНК и плотность 5-НТ_{1А} рецепторов в гиппокампе и префронтальной коре (Korte et al, 1996), что противоречит данным об антиагрессивном действии 5-НТ_{1А} агонистов. Что касается 5-НТ_{1В} рецепторов, то их агонисты демонстрируют более специфичный антиагрессивный эффект по сравнению с агонистами 5-НТ_{1А} рецептора (Oliver, 2004). У животных с нокаутом 5-НТ_{1В} рецептора (*Htr1b*^{-/-}) было обнаружено увеличение агрессии, вызванной изоляцией (Saudou et al, 1994). Важно отметить, что агонисты вышеуказанных рецепторов оказывают антиагрессивный эффект и одновременно снижают уровень 5-НТ в кортиколимбических областях мозга. Кроме того, существуют данные, показывающие положительную связь между метаболизмом 5-НТ и интенсивностью межсамцовой агрессии у мышей (Kulikov et al, 2012). Всё это бросает вызов классической серотониновой теории агрессии, в основе которой лежит предположение о сниженном уровне 5-НТ, как первопричине агрессивного поведения. В отличие от 5-НТ рецепторов первого типа, исследование роли 5-НТ₂ рецепторов осложнено недостаточной специфичностью лигандов. Одновременно со снижением выраженности агрессивного поведения, применение 5-НТ₂ агонистов сопровождается тяжелым седативным побочным эффектом (Oliver, 2004; Takahashi et al, 2012a).

В отличие от 5-НТ системы, намного меньше известно относительно роли ДА системы в агрессивном поведении. Однако, ДА система должна играть важную роль в агрессии, учитывая то, что она вовлечена в патофизиологию и психофармакологию таких состояний как синдром гиперактивности и дефицита внимания, а также шизофрении, которые обычно сопровождаются агрессивным поведением (Rosell, Siever, 2015). На первых этапах исследования вклада ДА в регуляцию агрессивного поведения (в 1970х-80х г.г.) было аккумулировано большое количество материала, полученного в клинических исследованиях амфетамина, апоморфина и антипсихотических препаратов (Avis, 1974; Miczek et

al., 1994; Takahashi, Miczek, 2014). Однако, эти данные были зачастую противоречивыми и трудными в интерпретации по причине низкой селективности препаратов. Более ценная информация была получена в ходе генетических исследований различных компонентов ДА системы. Полиморфизм в гене дофаминового транспортера (Young et al., 2002; Chen et al., 2005) или его нокаут (Rodríguez et al., 2004) приводит к усилению агрессии вследствие накопления ДА в синаптическом пространстве. Сходный эффект наблюдается и при нокауте генов, кодирующих катехол-О-метилтрансферазы (COMT) и MAO A (Cases et al., 1995; Gogos et al., 1998). В ряде работ продемонстрирована связь между функциональным полиморфизмом COMT (*Val158Met*) и повышенной агрессивностью (Rosell, Siever, 2015). Однако, стоит учитывать, что указанные ферменты участвуют в катаболизме и других нейротрансмиттеров (например, НА), а методика полного «выключения» гена является довольно грубым подходом к выявлению его функции, поскольку любые нарушения в ходе индивидуального развития запускают компенсаторные процессы, эффекты которых могут существенно изменять общую картину. Использование на грызунах препаратов, действующих как антагонисты D1 либо D2 рецепторов, приводило к снижению межсамцовой агрессии (Janssen et al., 1960; Rolinski, 1975; Krsiak et al., 1981; McMillen et al., 1989; Rodriguez-Arias et al., 1998; Bondar, Kudryavtseva, 2005). Однако снижают агрессию не только антагонисты, но и агонисты ДА рецепторов, что требует детального и осторожного анализа. Помимо фармакологических и генетических исследований, был проведён ряд экспериментов с использованием микродиализа, показавших, что в мозге животных, участвующих в агонистических взаимодействиях, уровень ДА повышается во фронтальной коре и прилежащих ядрах (Tidey, Miczek, 1996; Miczek et al., 1999; Van Erp, Miczek, 2000). При повторных актах агрессии уровень ДА в прилежащих ядрах усиливается и остаётся таковым даже в отсутствии конфронтации (Ferrari et al., 2003).

Помимо нейротрансмиттеров, в регуляции агрессивного поведения участвует также ряд нейропептидов и нейротрофических факторов. Было показано вовлечение кортикотропин-релизинг фактора (corticotrophin-releasing factor, CRF) и обоих его рецепторов (CRF1 и CRF2) в материнскую (D'Anna et al, 2005) и межсамцовую агрессию у мышей (Gammie et al, 2005; Gammie, Stevenson, 2006).

Нейропептид Y контролирует в первую очередь пищевое поведение, энергетический баланс и регулирует метаболизм (Herzog, 2003), но также показано и его вовлечение в агрессивное поведение (Emeson, Morabito, 2005). Увеличение агрессивности в тесте резидент-интродер демонстрируют самцы мышей с нокаутом гена, кодирующего Y1 рецепторы данного нейропептида (Karl et al, 2004). Аргинин-вазопрессин является нейропептидом, который модулирует различные виды социального поведения, в том числе и агрессивное (Ferris et al, 2006; Goodson, 2008; Neumann et al, 2010). Показано, что селективный антагонист V1a рецепторов вазопрессина ингибирует межсамцовую агрессию (Ferris et al, 2006), что демонстрирует вовлечение данных рецепторов в агрессивное поведение. Структурно-схожий с вазопрессином окситоцин также играет важную роль в контроле социального поведения. Введение агонистов рецепторов окситоцина увеличивает агрессивное поведение у кормящих самок (Bosch et al, 2005), но снижает территориальную агрессию у самцов (Harmon et al, 2002). Мыши с нокаутом генов, кодирующих окситоцин или его рецептор, показали повышенное агрессивное поведение, как у самцов, так и у кормящих самок (Winslow et al, 2000; Ragnauth et al, 2005).

Опираясь на вышесказанное, нельзя не отметить, что молекулярные механизмы регуляции агрессивного поведения очень разнообразны. Однако, такие важные составляющие нервной системы, как НТФ, в контексте их участия в регуляции агрессии практически не рассматривались.

1.2 Нейротрофические факторы и их участие в агрессивном поведении

НТФ – это большая группа полипептидов (до 200 аминокислот), организованных в одно- и двухцепочечные формы (Гомазков, 2007). НТФ играют ключевую роль в развитии и сохранении структур как центральной и периферической нервных систем, так и многих других систем организма. Они принимают участие в регуляции роста, развития, дифференциации, миграции и выживания клеточных популяций, процессах их адаптации к внешним воздействиям (Гомазков, 2007; Weismiller, Wu, 2012; Sidorova, Saarma, 2016). НТФ

также модулируют рост аксонов и дендритов, формирование синапсов и другие процессы нейропластичности (Cohen-Cory et al., 2010; Hoynng et al, 2011).

В настоящее время известно не менее 8-ми четко выделенных семейств НТФ (табл. 1). Следует отметить, что у разных авторов встречаются некоторые расхождения в классификации НТФ.

Таблица 1

Классификация НТФ (по данным Nathanson, 2012; Voutilainen et al., 2015)

Семейство	Фактор
Нейротрофины	Фактор роста нервов (NGF)
	Нейротрофический фактор мозга (BDNF)
	Нейротрофин-3 (NT-3)
	Нейротрофин-4/5 (NT-4/5)
Нейрокины	Цилиарный нейротрофический фактор (CNTF)
	Ингибирующий фактор лейкемии (LIF или CDF/LIF)
Нейрокины	Кардиотрофин-1 (CD-1)
	Кардиотрофин-подобный цитокин (CLC)
	Нейропэтин (NPN)
	Онкостатин М (OSM)
	Интерлейкины (IL-6, IL-11, IL-27)
	Фактор стволовых клеток (KL или SCF)
Инсулин-подобные ростовые факторы	Инсулиноподобный ростовой фактор-I (IGF-I)
	Инсулиноподобный ростовой фактор-II (IGF-II)
Эпидермальные факторы роста	Трансформирующий ростовой фактор α (TGF- α)
Трансформирующие ростовые факторы β (TGF β)	Трансформирующий ростовой фактор β (TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3)
	Глиальный нейротрофический фактор (GDNF)
	Нейртурин (NRTN)
	Артемин (ARTN)
	Персефин (PSPN)
Факторы роста фибробластов	Кислый фактор роста фибробластов (α FGF или FGF-1)
	Основной фактор роста фибробластов bFGF или FGF-2)
	Фактор роста фибробластов-5

Таблица 1 (продолжение)

Семейство тромбоцитарного ростового фактора	Тромбоцитарный ростовой фактор (PDGF-A, -B, -C и -D)
	Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)
Семейство MANF/CDNF	Мезенцефалический астроцитарный нейротрофический фактор (MANF)
	Дофаминовый нейротрофический фактор мозга (CDNF)

Одним из первых среди НТФ был открыт NGF – в конце 40-х – начале 50-х гг. 20-го века (Levi-Montalcini, 1952), BDNF – в 1982 г. (Barde et al., 1982), GDNF – 1993 г (Lin et al., 1993), CDFN же был открыт сравнительно недавно – в 2007 году (Lindholm et al., 2007).

1.2.1 Нейротрофический фактор мозга

Нейротрофический фактор мозга (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) является одним из наиболее интенсивно изучаемых нейротрофических факторов. После открытия данный НТФ стал вторым членом семейства нейротрофинов вслед за NGF (Barde et al., 1982). BDNF имеет около 50% аминокислотной идентичности с другим членами семейства нейротрофинов (Binder, Scharfman, 2004). Как транскрипты матричной РНК, так и белок BDNF широко представлены в неокортексе, гиппокампе, миндаине и мозжечке (Benarroch, 2015).

BDNF обладает структурной сложностью и полифункциональностью, которая отражается в 1) наличии множества промоторов в кодирующем его гене; 2) экспрессии множества транскриптов, подверженных альтернативному сплайсингу или имеющих различные посттранскрипционные модификации; 3) синтезе различных прекурсорных изоформ и только одной зрелой молекулы; 4) активации двух различных рецепторов, регулирующих противоположные эффекты. Наличие всех этих особенностей позволяет существовать селективному молекулярному механизму, регулиющему продукцию и функции BDNF (Martínez-Levy, Cruz-Fuentes, 2014).

По современным представлениям, ген *BDNF* человека локализуется в p14 регионе 11 хромосомы (у крыс и мышей это хромосомы 3q33 и 2qE3 соответственно) и содержит 12 экзонов, 9 из которых имеют специфические

промоторы (I-VIII 5' экзоны сплайсирующиеся с общим 3' экзоном IX). Такая структура гена наблюдается как у человека (West et al., 2014), так и у грызунов (Aid et al., 2007), однако число экзонов несколько варьирует (у мышей их 9, а у крыс 10). Промоторы I, II и IV гена *Bdnf* человека и I, II, IV-VI и IX гена *Bdnf* грызунов насыщены CpG островками (богатые CG участки ДНК), что делает их мишенями для процессов метилирования/деметиляции (Martínez-Levy, Cruz-Fuentes, 2014). На сегодняшний день получено значительное число доказательств участия метилирования гена *Bdnf* в регуляции нормальной активности нейронов и при различных патологических процессах (например, синдром Ретта и депрессивные состояния) (Каргова et al., 2014). Значительный вклад в эпигенетический контроль экспрессии BDNF вносит деацетилирование гистонов. Чаще всего модификации подвергаются гистоны H3 и H4, что может иметь критическое значение для реализации нейропластических процессов и действия антидепрессантов и стабилизаторов настроения (Каргова et al., 2014). Сейчас также известно, что экспрессию *Bdnf* могут регулировать и анти-BDNF транскрипты (микроРНК) (Martínez-Levy, Cruz-Fuentes, 2014).

Транскрипция BDNF в нейронах позитивно регулируется с помощью деполяризации мембраны, индуцируемой сенсорными стимулами, а также активацией NMDA рецепторов. Нейрональная активность инициирует транскрипцию BDNF (преимущественно через экзоны I и IV) путём повышения концентрации внутриклеточного Ca^{2+} (Adachi et al, 2014). Также транскрипция IV экзона регулируется транскрипционными факторами NFκB (nuclear factor κB), MEFD2 (myocyte enhancer factor 2D), Npas4 (Neuronal Per Arnt Sim domain protein 4) (Pruunsild et al., 2007) и BHLHB2 (basic helix-loop-helix B2) (Jiang et al., 2008).

Наличие множества промоторов и альтернативного сплайсинга приводит к существованию, по меньшей мере, 17 транскриптов (у человека) с различными 5' и 3' нетранслируемыми областями (untranslated region; UTR). Тем не менее, все они имеют общую кодирующую область, включающую экзон IX, который содержит полную последовательность молекулы proBDNF. Кроме того, этот экзон содержит два сайта полиаденилирования, производящих транскрипты с длинной, либо короткой 3' UTR (Pruunsild et al., 2007). Это имеет важное функциональное значение, поскольку мРНК с длинной 3' UTR локализована преимущественно в

шипиках дендритов (An et al., 2008) и транслируется в ответ на активацию нейронов. Напротив, мРНК с короткой 3' UTR активно транслируется в телах нейронов для поддержания базального уровня белка BDNF (Lau et al., 2010).

BDNF производится "по требованию" в ответ на нейрональную активность из белка-предшественника pre-proBDNF (Benarroch, 2015). Поскольку экзоны I, VII, VIII и IX обладают альтернативными стратовыми кодонами, теоретически может существовать четыре различные формы белка pre-pro-BDNF (который разрезается до proBDNF в аппарате Гольджи). Предполагается, что длина pre-домена может влиять на внутриклеточный транспорт BDNF и секрецию незрелой изоформы (proBDNF) (Aid et al., 2007).

В мозге proBDNF ожидает три возможных сценария: 1) подвергнуться редактированию в комплексе Гольджи и секретироваться в качестве зрелой молекулы BDNF; 2) секретироваться в виде proBDNF и «созреть» до BDNF в синаптическом пространстве; 3) секретироваться в виде proBDNF без последующего созревания и сопутствующих изменений (Lu et al., 2005).

Эффекты зрелого BDNF обуславливаются тропомиозин-связанным киназным B рецептором (tropomyosin-related kinase B receptor, TrkB), который фосфорилируясь запускает молекулярные каскады, приводящие к росту аксонов, созреванию дендритов, изменяющие синаптическую пластичность и защищающие нейроны (Benarroch, 2015). В отличие от BDNF, proBDNF связывается с общим для нейротрофинов p75^{NTR} рецептором и ингибирует рост нейритов, сокращает размеры нейронов и запускает процессы апоптоза (Kenchappa et al., 2010; Deinhardt et al., 2013).

BDNF необходим для развития и выживания различных типов нейронов (Park, Poو, 2013). Через TrkB рецепторы BDNF способен поддерживать и усиливать долговременную потенциацию (Benarroch, 2015). Важной функцией BDNF во взрослом мозге является реализация процессов синаптической пластичности, что обуславливает решающую роль, которую этот нейротрофин играет в механизмах памяти и обучения (Lu et al., 2014).

Нарушение же в генетическом и эпигенетическом контроле, транспорте или передаче сигнала BDNF может вносить вклад в ряд неврологических и психических расстройств, включая болезнь Альцгеймера (Sorova et al, 2014; Budni

et al, 2015; Beerli, Sonnen, 2016), Хантингтона (He et al, 2013; Zuccato, Cattaneo, 2014; Nguyen et al, 2016), Паркинсона (Paillard et al, 2015), невропатическую боль (Pezet, 2014; Khan, Smith, 2015), синдром Ретта (Katz, 2014; Li, Pozzo-Miller, 2014), шизофрению (Ahmed et al, 2015; Libman-Sokołowska et al, 2015), депрессивные расстройства (Autry, Monteggia, 2012; Scola, Andreazza, 2015), а также аддикцию (Li, Wolf, 2015; Pitts et al, 2016).

Полифункциональность BDNF делает его одним из важнейших модуляторов нейропластичности мозга, что, в свою очередь, вовлекает данный нейротрофин в регуляцию широкого спектра поведенческих реакций. Это открывает возможность рассмотрения BDNF также и в качестве регулятора агрессивного поведения.

1.2.2 Глиальный нейротрофический фактор

Глиальный нейротрофический фактор (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) первоначально был выделен из культуры клеток глиомы крысы. Сразу же было показано трофическое действие GDNF на культуру ДА нейронов (Lin et al., 1993). GDNF необходим для развития и поддержания нигростриатальных ДА нейронов, и в настоящее время получил всеобщее признание как потенциальный фактор, защищающий и восстанавливающий ДА нейроны, поражённые при болезни Паркинсона (Pascual et al., 2011; Ibáñez, Andressoo, 2016). Вместе с тремя другими структурно родственными факторами нейртурином, артемином и персефином, GDNF образует собственное семейство нейротрофических факторов, принадлежащих, в свою очередь, к суперсемейству трансформирующего ростового фактора β (Airaksinen, Saarma, 2002). Члены семейства GDNF передают сигнал через экстраклеточные GPI-связанные рецепторы (GFR α 1–4), каждый из которых селективен к соответствующим четырём членам семейства. GDNF проявляет аффинность к GFR α 1. Рецепторный комплекс GDNF–GFR α 1 связывается с экстраклеточным доменом рецепторной тирозин киназы (RET) модулируя различные внутриклеточные сигнальные каскады (Sariola, Saarma, 2003). В дополнение к RET, GDNF может напрямую связываться с молекулами нейрональной клеточной адгезии (NCAM) с последующей активацией Src-подобных киназ и MAP киназы (Ibáñez, Andressoo, 2016).

GDNF транслируется в виде pre-proGDNF, с дальнейшим расщеплением до биологически активной проформы (proGDNF) и зрелой формы (Noori-Zadeh et al, 2014). Известно, что proGDNF экспрессируется в большинстве отделов мозга, его можно обнаружить как в ДА нейронах, так и в астроцитах (Sun et al., 2014). Экспрессия proGDNF повышается после инъекции бактериального липополисахарида, что свидетельствует о способности proGDNF активироваться в ответ на воспаление (Sun et al., 2014). Также экспрессия proGDNF усиливается в модели болезни Паркинсона, вызванной нейротоксином MPTP, и при старении (Sun et al., 2014).

Как уже было сказано, транскрипты и/или белок GDNF, а также его рецепторы обнаружены во многих областях мозга, указывая на то, что GDNF может выполнять разнообразные функции (Saavedra et al., 2008). GDNF и GFR α 1 принимают участие в гиппокампальном синаптогенезе, формируя синапсы через индукцию эктопических пресинаптических сайтов (Ledda et al., 2007). Интересно отметить, что внутрижелудочковое введение GDNF усиливает пространственное обучение у мышей ASC, предрасположенных к депрессивно-подобному поведению (Naumenko et al., 2014). Это может быть связано с синаптическим ремоделированием, происходящим под контролем GDNF. В ряде исследований сообщается, что GDNF/GFR α 1 сигнализация может быть важна в развитии и функционировании различных типов ГАМКергических нейронов в мозге млекопитающих (Ibáñez, Andressoo, 2016). Также важна роль GDNF в поддержании клеточных элементов гематоэнцефалического барьера (Igarashi et al., 2000; Nishikiori et al., 2007; Shimizu et al., 2012). Усиление производства GDNF астроцитами или микроглиальными клетками, наблюдаемое при воспалении, указывает на GDNF как на важный регулятор активации микроглии и ингибитор нейронального воспаления (Saavedra et al., 2008; Rocha et al., 2012).

На экспрессию GDNF могут влиять различные факторы. В нигростриатальной системе наиболее вероятным регулятором экспрессии GDNF является ДА. Агонисты D1 и D2 рецепторов, как и сам ДА, усиливают синтез GDNF в культурах стриатальных нейронов (Guo et al., 2002) и астроглиальных клеток (McNaught, Jenner, 2000; Ohta et al., 2003,2004). У животных с полным нокаутом по D2 рецептору на 40-50% снижен уровень мРНК GDNF в чёрной

субстанции и стриатуме (Bozzi, Borrelli, 1999), что также подтверждает идею регулируемой дофамином экспрессии GDNF.

Другой моноамин способный модулировать экспрессию GDNF – серотонин. Было показано, что в культуре клеток С6 глиомы крыс 5-НТ усиливает экспрессию и секрецию GDNF дозо- и времязависимым образом, действуя преимущественно через 5-НТ_{2А} рецепторы (Hisaoka et al., 2004; Tsuchioka et al., 2008).

Мощными индукторами экспрессии GDNF являются провоспалительные цитокины, гормоны (мелатонин, эстроген) и разнообразные фармакологические препараты (ингибиторы обратного захвата и агонисты ДА; антагонисты глутамата; многие классы антидепрессантов и стабилизаторы настроения), а также низкокалорийная диета, физические упражнения и обогащённая среда (Saavedra et al., 2008). Среди факторов, модулирующих экспрессию GDNF, стоит поставить и хронический стресс. Так, крысы, подвергавшиеся воздействию хронического непредсказуемого стресса (Liu et al., 2012) и хронического ультрамягкого стресса (Uchida et al., 2013), демонстрируют значительное снижение экспрессии GDNF. Глюкокортикоиды, хорошо известные как «гормоны стресса», могут подавлять экспрессию и секрецию GDNF (Verity et al., 1999; Nakashima et al., 2004; Henkel et al., 2014).

Благодаря разнообразию выполняемых функций, GDNF участвует во многих физиологических процессах и вовлечён в патогенез ряда неврологических расстройств. Хорошо известно об участии GDNF в развитии болезней Паркинсона, Альцгеймера, хореи Хантингтона, синдрома Ретта и бокового амиотрофического склероза (Allen et al., 2013). Также известно, что GDNF участвует в патогенезе ишемического инсульта, эпилепсии (Ibáñez, Andressoo, 2016) и ряда нейropsychических расстройств, таких как биполярное расстройство (Scola, Andrezza, 2015) и униполярная депрессия (Lin, Tseng, 2015). Вместе с этим, совершенно не исследован вклад GDNF в развитие генетически-детерминированного агрессивного поведения.

1.2.3 Дофаминовый нейротрофический фактор мозга

Дофаминовый нейротрофический фактор мозга (Cerebral dopamine neurotrophic factor, CDNF) был описан сравнительно недавно как трофический

фактор, необходимый для выживания ДА нейронов (Lindholm et al., 2007). CDNF вместе с мезэнцефалическим астроцитарным нейротрофическим фактором (Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF) образует новое эволюционно-консервативное семейство нейротрофических факторов (Petrova et al., 2003; Lindholm et al., 2007, Lindholm et al., 2008; Airavaara et al., 2009). Зрелый белок CDNF состоит из 161 аминокислотного остатка и является специфичным для позвоночных паралогом MANF (Parkash et al., 2009). Трехмерные структуры обоих белков чрезвычайно схожи (Latge et al., 2015), но у CDNF из-за ряда аминокислотных замен имеются отличия в зарядах рядом с наиболее консервативными участками на поверхности молекулы (Parkash et al., 2009). Возможно, именно поэтому CDNF, в отличие от MANF, способен образовывать гомодимеры, что и должно функционально отличать его от MANF (Parkash et al., 2009). N-концевой домен белка CDNF демонстрирует структурное сходство с сапозинами – функционально плеотропными белками главным свойством которых является способность взаимодействовать с липидами и мембранами. Поэтому не случайно, что N-концевой домен CDNF способен взаимодействовать с фосфолипидами (Voutilainen et al., 2015). С-концевой домен CDNF гомологичен SAP домену Ku70, хорошо известного ингибитора проапоптотического белка BAX (Hellman et al., 2011). На основе этих данных была высказана гипотеза, что CDNF может ингибировать апоптоз через прямое взаимодействие с BAX (Hellman et al., 2011; Voutilainen et al., 2015). Также С-конец CDNF изначально развёрнут и, подобно редуктазам и изомеразам, содержит CRAC мотив с дисульфидным мостиком (Voutilainen et al., 2015). Возможно, С-концевой домен усиливает формирование дисульфидных мостиков у белков, секретируемых из эндоплазматического ретикула (ЭПР) (Lindholm, Saarma, 2010).

От других НТФ CDNF отличается своей внутриклеточной локализацией. Большинство секретируемых белков синтезируется в виде предшественников на шероховатом ЭПР, затем посттрансляционно расщепляются до зрелых форм, а после транспортируются из ЭПР через аппарат Гольджи во внеклеточное пространство. CDNF также синтезируется рибосомами на ЭПР, но из-за взаимодействия с KDEL-рецепторами и GRP78 не секретируется, а удерживается в ЭПР. По данным Voutilainen и др., (2015) в здоровых клетках до 90% белка CDNF

локализовано в ЭПР и только малая часть секретируется. Где в точности CDNF локализован пока не ясно, но взаимодействие с GRP78 и иммуноцитохимический анализ указывают, что он может находиться в просветах ЭПР (Lindholm et al., 2007; Glembotski et al., 2012; Henderson et al., 2013). Также особенностью CDNF является отсутствие проформы как таковой: зрелый белок получается путём отщепления от преформы (preCDNF) сигнального (pre) пептида длиной 26 аминокислотных остатков (Lindholm, Saarma, 2010). По другой версии (пока не нашедшей подтверждения) в роли пропептида может выступать весь N-концевой домен CDNF, подвергающийся протеолитическому расщеплению в линкерной области, т.о. зрелым белком будет являться только C-концевой домен (Lindholm, Saarma, 2010).

Транскрипты *Cdnf* широко встречаются как в развивающемся, так и зрелом мозге, а также в не нейрональных тканях (в сердце, скелетной мускулатуре и тестикулах). На 10 день постнатального развития высочайший уровень *Cdnf* наблюдается в гиппокампе и таламусе, а также стриатуме и чёрной субстанции (Lindholm et al., 2007). В человеческом мозге, как и в мозге мыши, широко представлены транскрипты *Cdnf*, причём относительно высокий уровень наблюдается в мозолистом теле и оптическом нерве, содержащих в основном аксональные проекции и олигодендроциты (Lindholm et al., 2007). Уровень белка CDNF во взрослом мозге мышей относительно низок. Он детектируется во II-VI слоях коры, в CA1 и CA3 пирамидальных областях и зубчатой извилине гиппокампа, солитарных клетках чёрной субстанции (не экспрессируют тирозин гидроксилазу), клетках Пуркинье мозжечка и голубом пятне (Lindholm et al., 2007).

По характеру действия CDNF существенно отличается от большинства нейротрофических факторов. Тогда как BDNF или GDNF, взаимодействуя со своими рецепторами, активируют сигнальные пути и обеспечивают выживание ДА нейронов *in vitro* и *in vivo*, добавление CDNF в культуру эмбриональных ДА нейронов не вызывает никакого эффекта, но в модели болезни Паркинсона, вызванной 6-гидроксидофамином (6-OHDA), CDNF неожиданно оказал выраженное нейропротекторное действие (Lindholm et al., 2007). В дальнейшем было отмечено, что CDNF не оказывает эффекта на здоровые ДА нейроны грызунов (Voutilainen et al., 2011; Airavaara et al., 2012). Таким образом, CDNF не

действует на здоровые, неповреждённые нейроны и важным условием его активности является наличие каких-либо патологических процессов. Эта особенность отличает CDNF от родственного MANF, который, оказывая защитные эффекты в культуре интактных ДА нейронов, действует как типичный нейротрофический фактор (Petrova et al., 2003).

Важнейшей функцией CDNF является защита клеток от стресса ЭПР, который является результатом накопления повреждённых белков в ЭПР (Lindholm, Saarna, 2010). Стресс ЭПР приводит к снижению уровня кальция, что, в свою очередь, усиливает секрецию CDNF (Glembotski et al., 2012). Это может объяснять, каким образом секретируемый внеклеточный CDNF защищает клетки при ишемическом поражении мозга и других патологических состояниях, при которых накопление белков с неправильной конформацией нарушает баланс кальция в ЭПР. Стресс ЭПР является триггером реакции развернутых белков (unfolded protein response, UPR) – сигнального пути, противодействующего стрессу путём деградации поврежденных белков, замедления переноса белков через мембрану ЭПР и усиления объёма сворачивания (Szegezdi et al., 2006). UPR осуществляется через три трансмембранных рецептора ЭПР: требующий инозитол фермент 1 (IRE1), панкреатическая ЭПР киназа (PKR)-подобная ЭПР киназа (PERK) и активирующий транскрипционный фактор 6 (ATF6) (Walter, Ron, 2011). Эти три рецептора активируются при стрессе ЭПР путём диссоциации от шаперона GRP78, который как мы уже знаем, ассоциирован с CDNF. Когда стресс ЭПР становится хроническим, CDNF секретируется. При этом наиболее поразительным свойством CDNF является неспособность стимулировать какие-либо эффекты внеклеточно кроме как в присутствии воспаления или стресса ЭПР. Обычные физиологические стимулы, приводящие к смерти клеток (как, например, дефицит НТФ) не влияют на активность CDNF (Voutilainen et al., 2015).

Эффективность CDNF, как фактора защищающего и восстанавливающего ДА нейроны, была показана в ряде исследований на различных животных моделях болезни Паркинсона. Так, CDNF частично восстанавливал функции повреждённой ДА системы будучи введенным даже через 4 недели после 6-OHDA (Lindholm et al., 2007). 14-дневное введение CDNF восстанавливало двигательный контроль, защищало тирозин гидроксилаза (ТГ)-позитивные нейроны и их стриарные

терминали от дегенерации в 6-OHDA модели болезни Паркинсона (Voutilainen et al., 2011). Исследование меченого белка CDNF показало его способность, подобно GDNF, ретроградно транспортироваться из стриатума в чёрную субстанцию (Voutilainen et al., 2011). Помимо прямого воздействия на поражённые нейроны, CDNF способствует нейрорегенерации, подавляя воспаление путём взаимодействия с астроцитами и микроглиальными клетками (Nadella et al., 2014; Zhou et al., 2014). В модели болезни Паркинсона, вызванной MPTP (лучше воспроизводящей патогенез), CDNF также показал нейропротекторные и восстановительные свойства, защищая ТГ-позитивные нейроны в чёрной субстанции и стриатуме (Airavaara et al., 2012). Также существует ряд работ, в которых продемонстрировано эффективное восстановление повреждённых ДА нейронов путём введения аденоассоциированных вирусных (AAV) векторов, кодирующих CDNF в 6-OHDA модели болезни Паркинсона (Bäck et al., 2013; Ren et al., 2013; Cordero-Llana et al., 2015). Неспособность CDNF вызвать какие-либо изменения в интактной ДА системе (Voutilainen et al., 2011) является, безусловно, позитивным качеством данного НТФ, как потенциального терапевтического агента. Последний сравнительный анализ эффективности терапии CDNF и GDNF на 6-OHDA модели болезни Паркинсона у приматов показал в целом большую эффективность именно CDNF (Garea-Rodríguez et al., 2016).

Тот факт, что CDNF широко экспрессируется как в зрелом мозге, так и на различных этапах постнатального развития (Lindholm et al., 2007), свидетельствует о его участии в созревании ДА системы. Недавно стало известно, что интрагиппокампальная инъекция CDNF (белка или AAV-вектора) способна улучшать долговременную память мышей в APP/PS1 модели болезни Альцгеймера (Kemppainen et al., 2015). Более того, наблюдаемое улучшение памяти не связано с уменьшением амилоидных бляшек и нейрогенезом в гиппокампе. Интересно то, что консолидация памяти наблюдалась и у мышей дикого типа – небольшой рост оптической плотности синаптофизина, получивших инъекцию AAV-вектора CDNF, указывает на повышение синаптической плотности в гиппокампе (Kemppainen et al., 2015). Эти данные заставляют по-новому взглянуть на функции CDNF в мозге, поскольку ранее мы уже обсуждали неспособность данного белка влиять на неповреждённые нейроны. Немаловажным фактом является то, что у

крыс, селекционированных на высокую агрессию, вызванную страхом по отношению к человеку, выявлено усиление проапоптотических процессов в мозге (Ильчибаева и др., 2016). В данном ключе исследование экспрессии BDNF в мозге высокоагрессивных животных представляется актуальным и может помочь лучше понять функции данного нейротрофического фактора *in vivo*.

1.2.4 Взаимосвязь нейротрофических факторов и агрессивного поведения

К настоящему моменту подавляющее большинство данных о связи нейротрофических факторов с агрессивным поведением получено только в отношении BDNF. В свою очередь, различные подходы к исследованию вклада BDNF в развитие данного типа поведения дали разнообразные, но противоречивые результаты.

Впервые эффект BDNF на выраженность агрессивного поведения был показан в работе Lyons и др., (1999). В данном исследовании было выявлено, что 50% недостаток данного нейротрофина на протяжении всей жизни BDNF^{+/-} мышей приводит к существенному усилению межсамцовой агрессии, сопровождающемуся снижением активности 5-НТ системы и нарушением в работе 5-НТ рецепторов (Hensler et al., 2003). Интересно, что применение антидепрессантов приводило к ослаблению агрессивного поведения у BDNF^{+/-} мышей (Lyons et al., 1999; Ibarguen-Vargas et al., 2009). Однако, глобальная делеция одного аллеля гена *Bdnf* (BDNF^{+/-}) – это довольно грубый подход к исследованию функциональной роли BDNF, и в последующем в ряде работ были применены более специфичные методы «выключения» гена *Bdnf* в отдельных структурах и на определённых этапах развития.

Так, кондиционный нокаут BDNF с использованием системы cre-loxP рекомбинации (BDNF^{2L/2Lck-Cre}) позволил «выключить» ген *Bdnf* уже после рождения (ингибирование экспрессии BDNF в течение двух недель постнатального развития) и, таким образом, продемонстрировал, что дефицит BDNF в постнатальном развитии также приводит к усилению межсамцовой агрессии (Rios et al., 2001). Также характерной чертой BDNF^{2L/2Lck-Cre} мышей является существенное нарушение экспрессии, плотности 5-НТ_{2A} рецепторов и связанной с

ними нейротрансмиссии (Rios et al., 2006; Klein et al., 2010). Позже, с помощью вышеуказанного метода удалось получить мутантов с кондиционным нокаутом BDNF ($BDNF^{2L/1LNes-cre}$), испытывающим дефицит данного нейротрофина в головном мозге только в пренатальном периоде развития. Данные животные оказались гораздо агрессивнее мышей $BDNF^{2L/2Lck-Cre}$, что выразилось в двукратном увеличении числа атак в тесте резидент-интродер (Chan et al., 2006).

Сайт-специфическая делеция гена BDNF в вентромедиальном гипоталамусе мышей, полученная с помощью AAV вектора, не вызвала изменения в агрессивном поведении или тревожности животных (Unger et al., 2007). Ранее, применение сходной методики, но в вентральной области покрышки (ventral tegmental area, VTA), привело к отмене большинства эффектов повторной агрессии на экспрессию генов внутри системы VTA-NAcc (Berton et al., 2006). Значительно более яркий результат получен в исследовании Ito и др. (2011), создавших мышей с нокаутом обеих аллелей гена *Bdnf* в CA3 области гиппокампа, которые в результате проявили значительный уровень межсамцовой агрессии.

В дальнейшем, исследования с применением нокаутных моделей пошли в направлении изучения конкретных механизмов, вовлекающих BDNF в развитие агрессивного поведения. Глобальный нокаут по гену *CRTC1*, кодирующему коактиватор CREB, привёл к значительному снижению экспрессии BDNF и его экзонов (IV и V) в гиппокампе и фронтальной коре, а также гена, кодирующего *TrkB*, и вместе с тем вызвал существенное усиление агрессивного поведения (Breuillaud et al., 2012). Недавнее исследование с применением селективного нокаута I, II, IV или VI промоторов гена *Bdnf* продемонстрировало, что разрушение I и II (но не IV и VI) промоторов приводит к значительному усилению агрессии (Maunard et al., 2015). Это доказало, что особую роль в контроле агрессивного поведения играет не только BDNF в целом или структура, в которой он экспрессируется, но также и его отдельные изоформы, обладающие различными молекулярными и поведенческими функциями.

В противоположность данным, полученным при исследовании животных с нокаутом по гену *Bdnf*, исследование мышей, предрасположенных к высокоагрессивному поведению, показывает обратную зависимость между агрессией и уровнем BDNF. Мыши линии АВН проявляют высокоагрессивное

поведение после двух недель содержания в изоляции, в то время как родственная им линия АВG не проявляет подобных черт и после шести недель изоляции (Hoffmann et al., 1993), более того ненормальная агрессивность взрослых мышей АВН делает невозможным их групповое содержание (Becker et al., 1997). Выявлено, что уровень белка BDNF значительно выше в гиппокампе, коре и стриатуме 5-недельных и 5-месячных мышей АВН по сравнению с мышами линии АВG (Lang et al., 2009). Стоит отметить, что у мышей АВН также наблюдаются нарушения в работе 5-НТ систем, выражающиеся в снижении метаболизма медиатора и дисбалансе в плотности 5-НТ_{1А} и 5-НТ_{2А} рецепторов (Schiller et al., 2006), что Lang с соавторами (2009) связывают с повышенным уровнем BDNF.

Имеется целый ряд работ, посвящённых исследованию экспрессии и/или уровней BDNF в контексте повторной агрессии, а также победы или поражения в агонистических взаимодействиях. Состарившиеся мыши CD-1, являющиеся доминантами в схватках, демонстрируют повышенный уровень BDNF в субвентрикулярной зоне и гиппокампе (Fiore et al., 2003) и повышение уровня мРНК TrkB в гиппокампе (Fiore et al., 2005). В ядрах шва мышей, победивших более чем в 20 схватках, наблюдается увеличение уровня мРНК BDNF (Kudryavtseva et al., 2010). У сирийских хомячков, побеждавших в схватках, отмечен более высокий уровень BDNF в зубчатой извилине гиппокампа (Taylor et al., 2011). Росту уровня BDNF в гипоталамусе доминантов также способствует социальная изоляция и обеднённая среда (хотя в обогащённой среде базовый уровень BDNF также возрастает) (Pietropaolo et al., 2004). В другой работе развитие в обогащённой социальной среде (общее гнездо, в котором сразу несколько матерей растят потомство) также существенно повышало уровень BDNF в гипоталамусе, гиппокампе и стриатуме, но не оказывало эффекта на уровень BDNF у доминантов (вместе с этим снижалась и агрессивность животных) (Branchi et al., 2006). В работах с изменением среды содержания животных сказывается эффект смягчения стресса, который снижает агрессивность в целом и «смазывает» общую картину.

В большинстве вышеуказанных работ просматривается очевидная связь предрасположенности к агрессивному поведению и доминирования в агонистических контактах с повышенным уровнем BDNF (особенно в гиппокампе).

С этими данными согласуются результаты, показавшие, что внутрижелудочковая инъекция BDNF усиливает агрессивное поведение у мышей конгенной каталептической линии AKR.CBA-D13Mit76C в тесте на межсамцовую агрессию (Naumenko et al., 2014). Примечательно, что все работы, так или иначе связанные с дефицитом BDNF в мозге, демонстрируют совершенно противоположную связь с агрессивным поведением. Это, по-видимому, связано с тем, что «выключение» гена *Bdnf* в критические периоды развития (пренатальный или постнатальный) нарушает правильную закладку 5-НТ системы и её основных компонентов, влияя даже на функции сигнализации (Hensler et al., 2003; Homberg et al., 2014). В свою очередь, неслаженная работа 5-НТ системы, сопровождаемая дефицитом медиатора в лимбической области, провоцирует развитие высокоагрессивного фенотипа. Закономерен вопрос: ассоциированы ли агонистические взаимодействия с высоким уровнем BDNF в кортико-лимбической области? Ответить на этот вопрос можно только приняв, что в данном случае мы имеем дело с несколькими разными механизмами реализации агрессивного поведения, но одинаково вовлекающими высокий уровень BDNF. Мыши линии АВН имеют сниженную активность 5-НТ системы (что хорошо согласуется с классическими представлениями о нейрохимической природе агрессии) и в таком случае повышенный уровень BDNF может быть компенсаторным. В случае с агонистическими взаимодействиями высокий уровень BDNF у доминантов может быть скорее причиной, по которой одни животные оказываются более успешными в схватках, чем другие, ведь BDNF может эффективно снижать уровень тревожности и страха животных. Какие же факторы могут влиять на индивидуальные уровни BDNF пока не ясно.

Некоторые исследования на людях также указывают на взаимосвязь BDNF и агрессивного поведения, хотя существующие данные весьма противоречивы. Так, выявлена ассоциация между Val66Met полиморфизмом BDNF и агрессивным поведением у больных шизофренией (Spalletta et al., 2010). Однако в других исследованиях данная ассоциация не подтвердилась. Не было выявлено различий в генотипе или распределении аллелей Val66Met полиморфизма между агрессивными и неагрессивными больными шизофренией (Chung et al., 2010; Guan et al., 2014). В то же время показано, что агрессивность пациентов с болезнью

Альцгеймера положительно коррелировала с уровнем BDNF в плазме крови, хотя группы с тремя разными генотипами Val66Met полиморфизма и не различались между собой (Nagata et al., 2014). Найдена ассоциация между подростковой агрессией и наличием Val66Met полиморфизма (Kretschmer et al., 2014). Также выявлена прямая корреляция между агрессией и уровнем BDNF в сыворотке больных обсессивно-компульсивным расстройством (Dos Santos et al., 2011), хотя BDNF, как и все остальные нейротрофины плохо проникает через гематоэнцефалический барьер, а соответственно подходить к оценке подобной взаимосвязи следует с осторожностью.

Стоит признать, что на сегодняшний день существуют пробелы в понимании того, как именно BDNF связан с агрессивным поведением, в особенности это касается селекции на высокую агрессивность. Неизвестно участвует ли в данных процессах функционально-активный предшественник BDNF – proBDNF. Также совершенно не исследован вклад GDNF и CDNF, а также их предшественников в развитие генетически детерминированного агрессивного поведения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Экспериментальные животные

Эксперименты проводились на взрослых самцах серых крыс (*Rattus norvegicus*), селекционированных в Институте цитологии и генетики СО РАН г. Новосибирск. Селекция проводилась в течение 85 поколений на высокий уровень агрессии, вызванной страхом по отношению к человеку, или на её отсутствие (Naumenko et al., 1989, Plyusnina, Oskina, 1997). Животные содержались по 4 особи в металлических клетках размером 50x33x20 см в стандартных лабораторных условиях (температура 18-22°C, относительная влажность 50-60%, естественное освещение (12 часов света и 12 часов темноты) со свободным доступом к стандартной пище и воде.

Для выполнения поведенческих экспериментов за два дня до эксперимента крысы возрастом 6 месяцев и весом 300-350 г были рассажены в индивидуальные клетки для снятия групповых эффектов. Эксперименты были одобрены этической комиссией Института Цитологии и Генетики (протокол №29 от 02.10.2015). Все эксперименты записывались на видеокамеру, с последующей обработкой с помощью программы, разработанной в лаборатории эволюционной генетики, которая позволяет оценить число и время проявления каждого поведенческого паттерна (Плюснина и др., 2003).

В эксперименте по определению уровня экспрессии НТФ использовали по 8 интактных животных каждой линии. После декапитации из мозга были выделены следующие структуры: гиппокамп, фронтальная кора, область ядер шва среднего мозга, стриатум, гипоталамус, чёрная субстанция, прилежащие ядра и миндалевидный комплекс. Структуры мозга были заморожены в жидком азоте и хранились при -80°C до последующих процедур.

Содержание экспериментальных животных и все процедуры были выполнены в соответствии с международными правилами обращения с животными National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No. 80023), 1996.

2.2 Поведенческие тесты

Все поведенческие тесты выполнялись на интактных животных.

Тест на защитно-оборонительную агрессию, вызванную страхом (тест на предъявление перчатки)

В возрасте 6 месяцев, 25 ручных и 25 агрессивных самцов 85 поколения селекции были подвергнуты тесту на предъявление перчатки для определения уровня агрессивности. Уровень выраженности защитно-оборонительной агрессии оценивался по следующим показателям (Plyusnina, Oskina, 1997; Plyusnina et al., 2009) (табл. 2):

Таблица 2

Критерии оценки поведения в тесте на предъявление перчатки

-4	при открытии клетки крыса остается около дверцы, вокализует и атакует руку, как только она начинает приближаться
-3	при открытии клетки крыса перемещается к задней стенке, вокализует и атакует руку при её приближении
-2	крыса сидит у задней стенки клетки, активно сопротивляется взятию в руки, при взятии в руку пытается укусить
-1	крыса сидит у задней стенки клетки, при приближении руки отворачивается, забивается в угол, в некоторой степени сопротивляется взятию в руки, вокализует
1	крыса сидит у задней стенки, исследует вытянутую руку, но избегает прикосновений и взятия в руки
2	крыса приближается к вытянутой руке и исследует её, оставаясь у задней стенки клетки, избегает взятия в руки
3	крыса приближается к руке, когда дверца открывается, исследует руку, при взятии в руки неактивно сопротивляется, выскользывает и проявляет вокализацию
4	активно исследует руку, как только дверца открывается, при взятии в руки не проявляет реакций избегания

Тест на межсамцовую агрессию на нейтральной территории

В тесте было использовано по 12 интактных самцов из ручной и агрессивной линий и эквивалентное количество самцов линии Вистар, используемых в качестве нейтрального оппонента. Ручных и агрессивных животных попарно ссаживали с

самцами линии Вистар в незнакомой клетке (40 × 40 × 60 см), которая была разделена на два равных отсека перегородкой (Naumenko et al., 1989). В отсеки помещали крыс одинаковой массы, а затем убирали перегородку и в течение 10 мин регистрировали различные виды поведения.

Агонистическое поведение оценивали по следующим поведенческим показателям (Пошивалов, 1978; De Voer et al., 2003): латентному периоду первого агрессивного взаимодействия, числу и времени атак, преследований, ударов задними лапами, вертикальных стоек, опрокидываний на спину, агрессивного груминга, времени боковых поз угрозы. Суммарное время агрессивного поведения включало длительность всех перечисленных выше поз и движений, связанных с конкуренцией или конфликтом животных. Кроме того, оценивали суммарное время социального неагрессивного поведения, которое включало время приближений и обнюхиваний интродера.

Тест на патологическую агрессию по отношению к ювенильному самцу

Для данного эксперимента было взято по 12 интактных самцов из агрессивной и ручной линий, в качестве «оппонентов» были использованы ювенильные самцы той же линии, что и тестируемое животное, в возрасте 19-21 дней. Животных попарно ссаживали с соответствующим ювенильным самцом в незнакомой клетке (40 × 40 × 60 см), которая была разделена на два равных отсека перегородкой, а затем убирали перегородку и регистрировали различные виды поведения. Но поскольку у агрессивных животных атака носила патологический характер (укусы были направлены в наиболее уязвимые места оппонента и не прекращались после принятия последним субмиссивной позы), нами было принято решение не учитывать такой параметр как число атак и прекращать эксперимент после первой атаки. Если атаки не наблюдалось, то длительность теста составляла 10 мин.

Тест на агрессию хищника

Агрессию хищника изучали, подсаживая мышь в “домашнюю” клетку животного (Naumenko et al., 1989). За 30 минут до проведения теста клетку с резидентом помещали в комнату, где проводили эксперимент. По окончании 30-ти минутного периода адаптации к новой комнате жертву помещали в клетку. В данном тесте было использовано 9 ручных и 10 агрессивных самцов. В качестве

жертвы использовали взрослых мышей линии C57BL6. Сразу после проявления крысой первой атаки тест прекращали. В случае если таковой не наблюдалось, время тестирования составляло 10 мин. Оценивали процент животных, напавших на мыш. Кроме того для крыс, напавших на жертву, регистрировали латентный период нападения.

2.3 Количественная ОТ-ПЦР в реальном времени

Общая РНК была выделена с помощью TRIzol Reagent (“Life technologies”, USA) в соответствии с инструкцией производителя. РНК была обработана ДНКазой без РНКазной активности (1 ед. на пробу, 37°C, 10 мин), разведена водой до концентрации 0.125 мкг/мкл и хранилась при -80°C. Присутствие примесей геномной ДНК в препаратах РНК определяли в соответствии с протоколом, описанным ранее (Науменко, Куликов, 2006; Kulikov et al., 2005; Naumenko et al., 2008).

Реакция обратной транскрипции. 1 мг общей РНК был смешан со 180 нг статистического праймера длиной 6 нуклеотидов (конечная концентрация праймера составила 5 мкМ) и 2.25 мкмольями стерильного KCl в объёме 16 мкл, денатурирована при 94°C в течение 5 мин на амплификаторе БИС №111-05.60 (Россия), после чего был проведен отжиг при 42°C в течение 15 мин, затем 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 MnCl₂ (0.03 мкмоль). Полученная смесь была инкубирована при 41°C в течение 60 мин. Синтезированная кДНК хранилась при температуре -20°C.

Полимеразная цепная реакция в реальном времени (real-time PCR). Праймеры, используемые для амплификации кДНК, исследуемых генов, разработаны на основе последовательностей, опубликованных в базе данных EMBL Nucleotide database, и синтезированы в компании “Биосан” (Новосибирск) (табл. 3). 1 мкл кДНК смешивали с 19 мкл Master mix’a (R-414, Синтол, Москва, Россия), содержащего интеркалирующий краситель SYBR Green I. ПЦР была проведена на амплификаторе LightCycler 480 System (“Roche”, Швейцария) в соответствии со следующим протоколом: 3 мин 94°C, 1 цикл; 10 сек при 94°C, 30

сек при 64°C (*rPol II*, *Gdnf*) и 59°C (*Bdnf*, *Cdnf*), 30 сек при 72°C, 40 циклов. В качестве внешнего экзогенного стандарта для контроля ПЦР была использована геномная ДНК, выделенная из ядер гепатоцитов самца Вистар по методу, предложенному Moisan с соавторами (Moisan et al., 1996). Серия разведений геномной ДНК с концентрацией 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 и 64 нг/мкл амплифицировалась одновременно в отдельных пробирках и использовалась как внешний экзогенный стандарт для построения калибровочной кривой. Калибровочная кривая в координатах C_t (значение порогового цикла) – $\log P$ (десятичный логарифм количества стандарта ДНК) была построена автоматически программным обеспечением LightCycler 480 System. Для контроля специфичности амплификации использовался анализ кривой плавления для каждого прогона каждой пары праймеров. Экспрессия генов представлена как отношение количества кДНК, исследуемого гена, к 100 копиям гена ДНК-зависимой РНК-полимеразы 2 (*rPol II*), выполняющей функцию внутреннего стандарта.

Таблица 3

Нуклеотидные последовательности и характеристики праймеров, используемых в работе

Ген	Нуклеотидная последовательность	Температура отжига, °С	Длина ПЦР продукта, п.н.
<i>Bdnf</i>	F 5'-tgaagccacctctctcagtc -3' R 5'-agcagtactctcagggctagg-3'	59	126
<i>Cdnf</i>	F 5'-gaagaaattggacttggaatctg-3' R 5'-ccagttctttaatgaggttcac-3'	61	137
<i>Gdnf</i>	F 5'-ccagataaacaagcggcgccac-3' R 5'-cgtagcccaaacccaagtcag-3'	64	169
<i>rPol II</i>	F5'- ttgtcgggcagcagaacgtg-3' R5'-caatgagacctctctctccc-3'	64	186

2.4 Вестерн блот анализ

Цитозольный белок выделяли, гомогенизируя соответствующие структуры мозга в буфере, содержащем 10мМ Трис HCl, pH 7.2, 1мМ EDTA, 5мМ β -

меркаптоэтанол и ингибиторы протеаз (GE Healthcare, США). Центрифугировали на 2000 об/мин 15 мин при 4°C, отбирали супернатант и центрифугировали на 14000 об/мин при 4°C в течение часа. Количество общего белка оценивали с помощью BCA метода, используя коммерческий набор Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). В дальнейшем образцы приводили к равной концентрации (1мг/мл) с помощью 4-кратного Лемли буфера, содержащего 62 мМ Трис-НСl, рН 6.8, 10% сахарозы, 2% SDS, 5% β-меркаптоэтанол и денатурировали с помощью нагрева в течение 5 минут при 95°C. Белок разделяли с помощью SDS-PAGE гель-электрофореза, используя 15%-ный (BDNF) и 12% (CDNF, GDNF) разделяющий гель, и переносили с помощью полусухого электроблоттинга на нитроцеллюлозную мембрану (Bio-rad Laboratories Ltd., USA) в течение ночи при силе тока 50мА. Для переноса использовали буфер, содержащий 0.19М глицина, 25мМ Трис-НСl рН 8.3 и 20% метанола. В качестве маркера использовали смесь Full Range RPN800E (GE Healthcare, США).

Для иммунодетекции белка мембрану блокировали с 5%-ным сухим обезжиренным молоком, разведенном в TBS-T буфере (Tris Bufferd Saline with Tween 20, Santa Cruz, USA), в течение часа при комнатной температуре и инкубировали в течении ночи при 4°C с первичными антителами. Были использованы поликлональные антитела кролика к белку BDNF (1:200, sc-546, Santa Cruz, USA), GDNF (1:100, ab18956, Abcam, UK) и CDNF (1:1000, ab136329, Abcam, UK). В качестве внутреннего контроля были использованы поликлональные антитела кролика к β-тубулину (1:20000, ab6046, Abcam, UK). Отмывали мембрану 5×5 мин буфером TBS-T, добавляли вторичные поликлональные антитела козы, направленные против иммуноглобулинов кролика, конъюгированные с пероксидазой хрена (1:10000 для BDNF, GDNF, CDNF и 1:20000 для β-тубулина, sc-2004, Santa Cruz, USA), и икубировали в течение часа при комнатной температуре. Повторяли отмывку мембраны. Связанные антитела визуализировались с помощью Super Signal™ West Femto Maximum Sensitivity Substrate (Thermo Fisher Scientific Inc., USA), в соответствии с инструкцией производителя, и гелъдокументирующей системы Fusion FX7-820 System (Vilber Lourmat, France). Полученное изображение денситометрировали и количественно оценивали содержание белка при помощи программы Scion Image. Экспрессию

белка выражали в относительных единицах, нормировали на экспрессию β -тубулина, которая конститутивна для мозга, и представляли, как процент от ручных животных.

Указанные антитела и методика позволили детектировать не только зрелые формы НТФ, но и уровни белков-предшественников. Так при исследовании уровней белка BDNF, помимо зрелой формы с молекулярным весом 14кДа, была также детектирована форма белка-предшественника proBDNF с молекулярным весом 32кДа (Рис. 1).

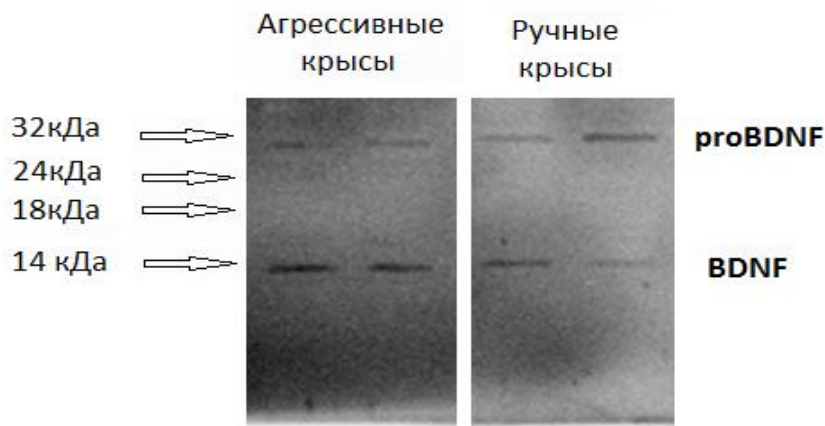


Рис. 1 Результат иммуноблота на мембране, полученный с помощью анти-BDNF антител (sc-576); стриатум высокоагрессивных и ручных крыс.

Что касается других НТФ, то при использовании анти-GDNF антител было детектировано три формы белка GDNF: белок-предшественник proGDNF на 38 кДа (Sun et al., 2014), димер зрелой формы GDNF на 28 кДа (Lin et al., 1993; Euteneuer et al., 2013), а также мономер зрелой формы GDNF на 24 кДа (в соответствии с инструкцией к антителам) (Рис. 2)

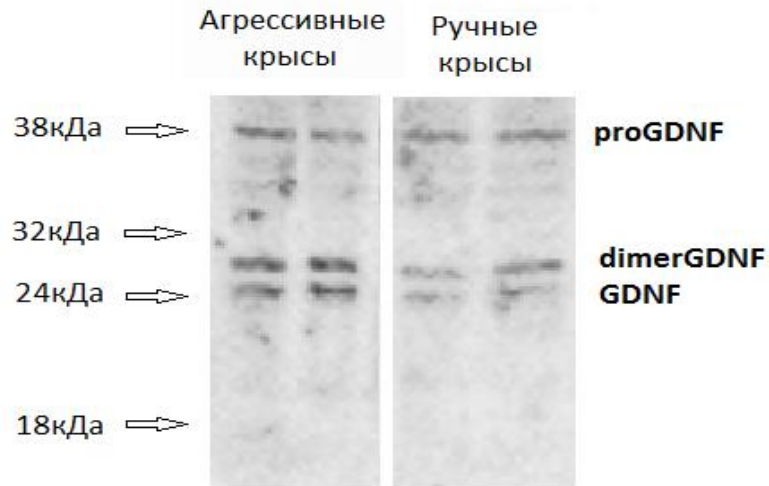


Рис. 2 Результат иммуноблота на мембране, полученный с помощью анти-GDNF антител (ab18956); ядра шва среднего мозга высокоагрессивных и ручных крыс.

При использовании анти-CDNF антител также выявлено две формы белка: зрелая форма на 24 кДа (в соответствии с инструкцией к антителам) и дополнительная полоса на 32 кДа, которую мы определили, как preCDNF (Рис. 3).

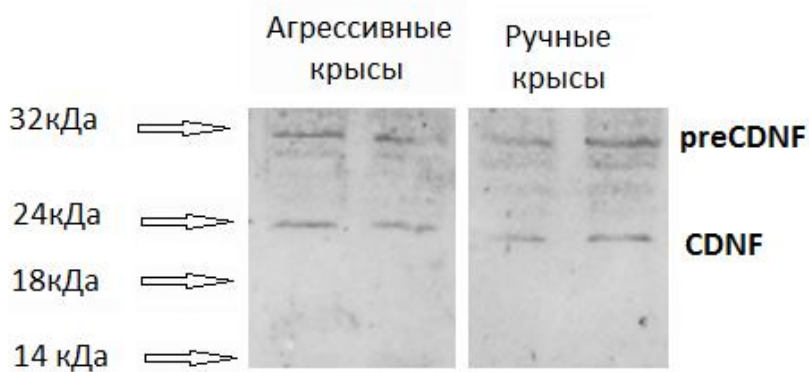


Рис. 3 Результат иммуноблота на мембране, полученный с помощью anti-GDNF антител (ab18956); гиппокамп высокоагрессивных и ручных крыс.

2.5 Статистическая обработка результатов.

Все данные представляли как $m \pm SEM$.

Статистическую обработку данных, полученных при изучении поведения крыс в тестах на разные виды агрессии (кроме теста на предъявление перчатки), проводили с помощью непараметрического анализа ANOVA Крускала–Уоллис.

Анализировались не абсолютные показатели суммарного времени различных типов поведения, а процент от времени теста.

Все остальные результаты, включая тест реакции на перчатку, сравнивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим сравнением по Фишеру. Предварительно данные были проверены на принадлежность крайних вариантов к совокупности, выбраковка осуществлялась с помощью критерия Диксона.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Связь защитно-оборонительной агрессии с иными типами агрессивного поведения

Защитно-оборонительная агрессия, вызванная страхом. Крысы с генетически детерминированным высоким уровнем агрессивной реакции на человека или её отсутствием существенно различались ($F_{(1,49)}=584.72$, $p<0.001$) по выраженности этого типа агрессивного поведения (Рис. 4).

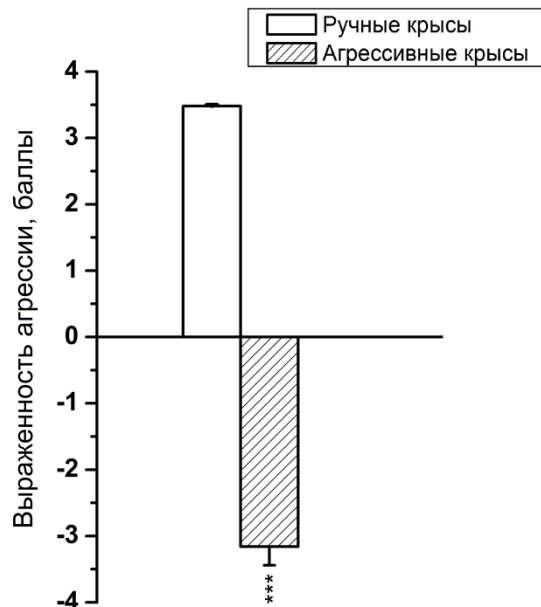


Рис. 4 Уровень выраженности защитно-оборонительной агрессии в тесте на предъявление перчатки. *** $p<0.001$ – по сравнению с ручными животными

Агрессия хищника. Значительная разница между агрессивными и неагрессивными крысами была обнаружена в тесте на хищническую агрессию (Рис. 5). Было показано существенное влияние генотипа на латентное время атаки ($H_{(2,N=19)}=9.55$, $p<0.01$) в тесте на агрессию хищника. Агрессивные крысы атаковали мышей быстрее, чем неагрессивные. В то же время достоверных различий по проценту атакующих животных между агрессивными и неагрессивными крысами обнаружено не было. Процент крыс, атакующих мышей составил 66,6% для неагрессивных и 90% для агрессивных крыс.

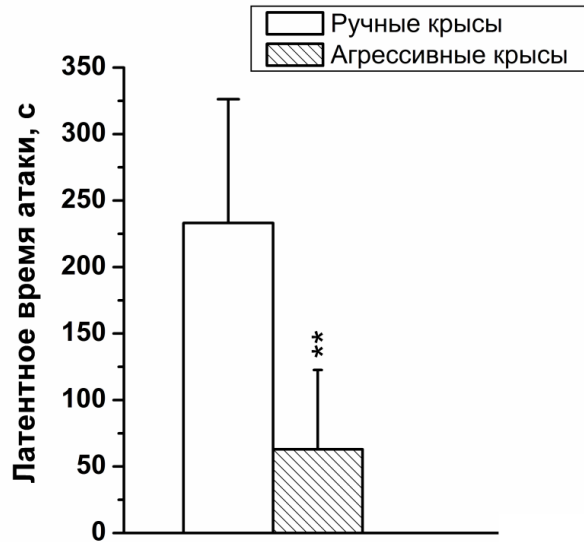


Рис. 5 Латентное время атаки в тесте на хищническую агрессию у высокоагрессивных и ручных крыс. ** $p < 0.01$ – по сравнению с ручными животными.

Патологическая агрессия на ювенильного самца. Неожиданные и очень интересные результаты были получены в тесте на патологическую агрессию по отношению к ювенильному самцу. Была выявлена значительная разница в выраженности этого типа агрессивного поведения между высокоагрессивными и ручными животными (Рис. 6). Было выявлено значительное влияние генотипа на латентное время первой атаки ($H_{(1, N=24)}=6.18$, $p=0.01$) (Рис. 6Б) и латентное время неагрессивного социального взаимодействия ($H_{(1, N=20)}=9.73$, $p < 0.01$) (Рис. 6А).

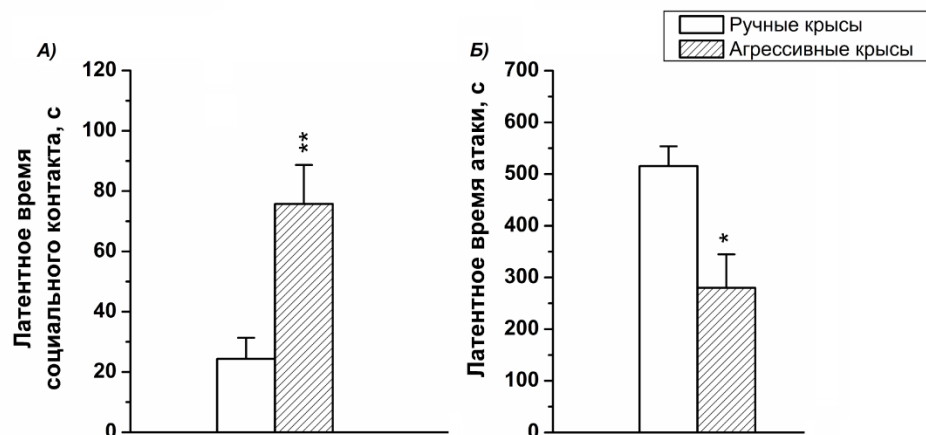


Рис. 6 Поведение высокоагрессивных и ручных крыс в тесте на патологическую агрессию по отношению к ювенильному самцу. А) латентное время первого социального контакта, Б) латентное время первой атаки. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – по сравнению с ручными крысами.

Интересно отметить, что крысы с генетически детерминированным высоким уровнем агрессии, вызванной страхом, нападали на ювенильного самца значительно быстрее по сравнению с неагрессивными крысами. В то же время, агрессивные крысы продемонстрировали увеличение латентного времени первого неагрессивного социального контакта, что указывает на нарушение социального поведения у данных животных. Тем не менее, неагрессивные крысы также нападали на ювенильных самцов, хотя они показали значительно увеличенное латентное время первого агрессивного контакта и сниженное латентное время первого неагрессивного контакта по сравнению с агрессивными крысами.

Межсамцовая агрессия на нейтральной территории. Примечательно, что крысы, с генетически детерминированным высоким уровнем агрессивной реакции на человека и её отсутствием, не отличались по выраженности межсамцовой агрессии (Рис. 7).

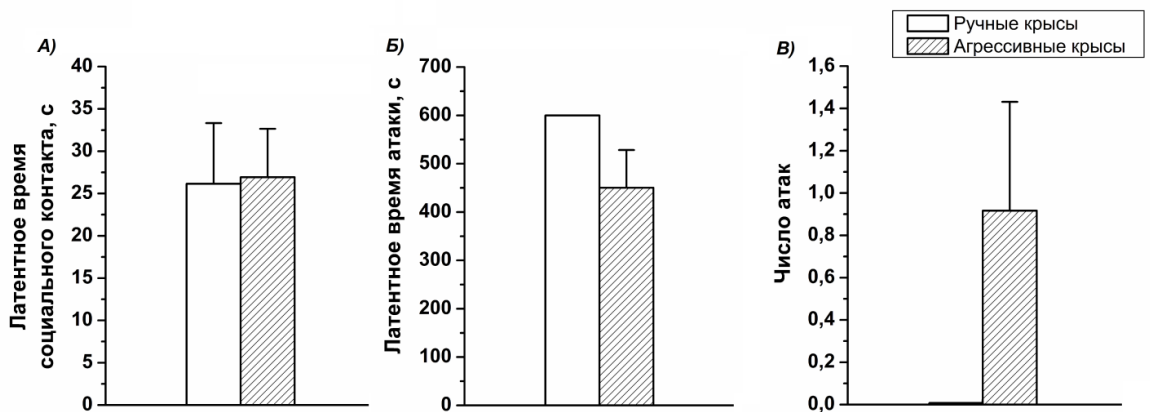


Рис. 7 Поведение высокоагрессивных и ручных крыс в тесте на межсамцовую агрессию. А) латентное время первого социального контакта, Б) латентное время первой атаки, В) количество атак.

Тем не менее, ни один из исследованных самцов неагрессивной линии не показал агрессивной реакции по отношению к крысам линии Вистар и, следовательно, латентное время атаки было равно продолжительности теста (600 сек) (Рис. 7Б). Использование непараметрического анализа Крускала-Уоллиса позволило выявить влияние генотипа на латентное время атаки только на уровне тенденции ($H_{(1, N=24)}=3.26, p=0.07$) (Рис. 7Б). Никаких существенных различий в других поведенческих паттернах в данном тесте обнаружено не было.

3.2 Экспрессия BDNF в мозге крыс с генетической предрасположенностью к высокой агрессивности или к её отсутствию

При исследовании уровня экспрессии BDNF были обнаружены достоверные изменения как в уровне мРНК исследуемого гена, так и в уровне зрелого белка и его предшественника.

Значительное увеличение уровня мРНК данного гена было зафиксировано в области ядер шва среднего мозга ($F_{(1,14)}=9.45$, $p<0.01$), фронтальной коре ($F_{(1,13)}=5.72$, $p<0.05$), прилежащих ядрах ($F_{(1,10)}=29.08$, $p<0.001$), миндалевидном комплексе ($F_{(1,14)}=7.41$, $p<0.01$) и гипоталамусе ($F_{(1,13)}=6.53$, $p<0.05$) у высокоагрессивных крыс по сравнению с неагрессивными животными (Рис. 8).

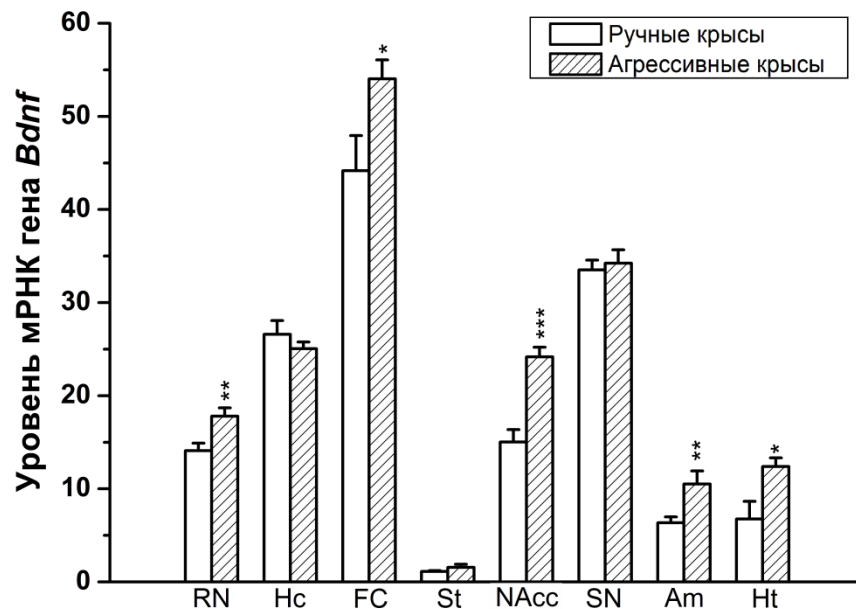


Рис. 8 Уровень мРНК гена *Bdnf* в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. Экспрессия генов представлена как число копий кДНК соответствующего гена, отнесённых на 100 копий rPol2. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$ – по сравнению с ручными животными.

Изменений в уровне мРНК BDNF в гиппокампе, стриатуме и чёрной субстанции не было обнаружено ($F_{(1,14)}=0.90$, $p=0.36$; $F_{(1,11)}=1.36$, $p=0.27$ и $F_{(1,13)}=0.16$, $p=0.70$ соответственно) (Рис. 8).

При исследовании уровня белка proBDNF было выявлено его достоверное увеличение в гиппокампе ($F_{(1,12)}=12.36$, $p<0.01$), прилежащих ядрах ($F_{(1,10)}=9.85$, $p<0.01$) и миндалевидном комплексе ($F_{(1,12)}=15.83$, $p<0.01$) агрессивных крыс по сравнению с ручными (Рис. 9).

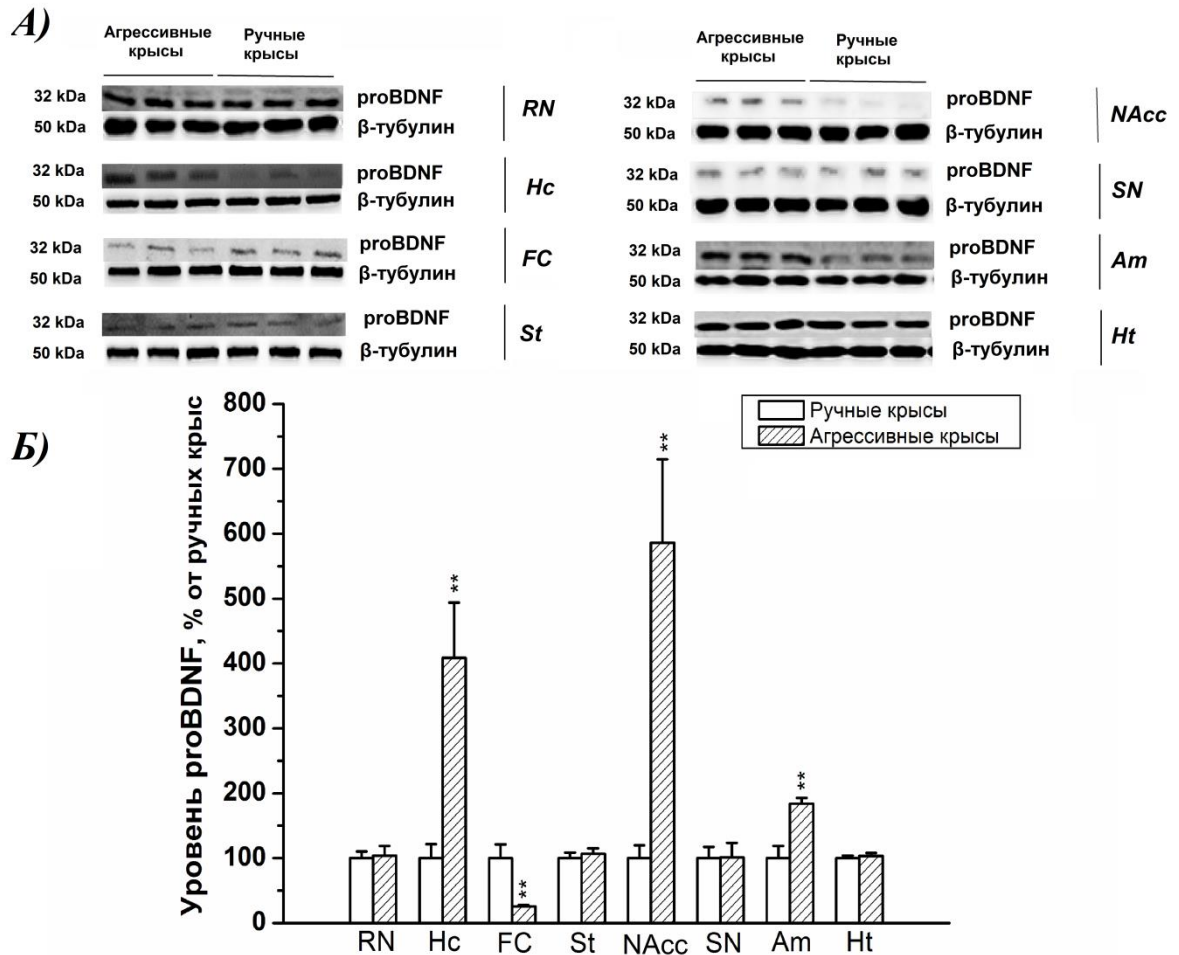


Рис. 9 Уровень белка proBDNF в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. А) Результат иммуноблота на мембране; Б) Количественная оценка интенсивности хемилюминесцентного сигнала. Уровень белка proBDNF представлен в относительных единицах, нормализованных на соответствующий уровень β -тубулина. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. ** $p<0.01$ – по сравнению с ручными животными.

В то же время противоположные изменения были найдены во фронтальной коре ($F_{(1,11)}=10.47$, $p<0.01$). При изучении уровня данного белка в ядрах шва среднего мозга ($F_{(1,11)}=0.04$, $p=0.85$), стриатуме ($F_{(1,8)}=0.31$, $p=0.60$), чёрной субстанции ($F_{(1,10)}=0.001$, $p=0.98$) и гипоталамусе ($F_{(1,10)}=0.32$, $p=0.59$) не было

обнаружено никаких достоверных различий между высокоагрессивными и ручными животными (Рис. 9).

Также были обнаружены значительные изменения в уровне зрелого белка BDNF. Увеличение уровня данной формы белка было выявлено в области ядер шва среднего мозга ($F_{(1,11)}=5.44$, $p<0.05$), гиппокаме ($F_{(1,12)}=25.32$, $p<0.001$), стриатуме ($F_{(1,8)}=12.19$, $p<0.001$), прилежащих ядрах ($F_{(1,11)}=9.11$, $p<0.01$) и миндалевидном комплексе ($F_{(1,8)}=6.30$, $p<0.05$) высокоагрессивных животных по сравнению с неагрессивными (Рис. 10).

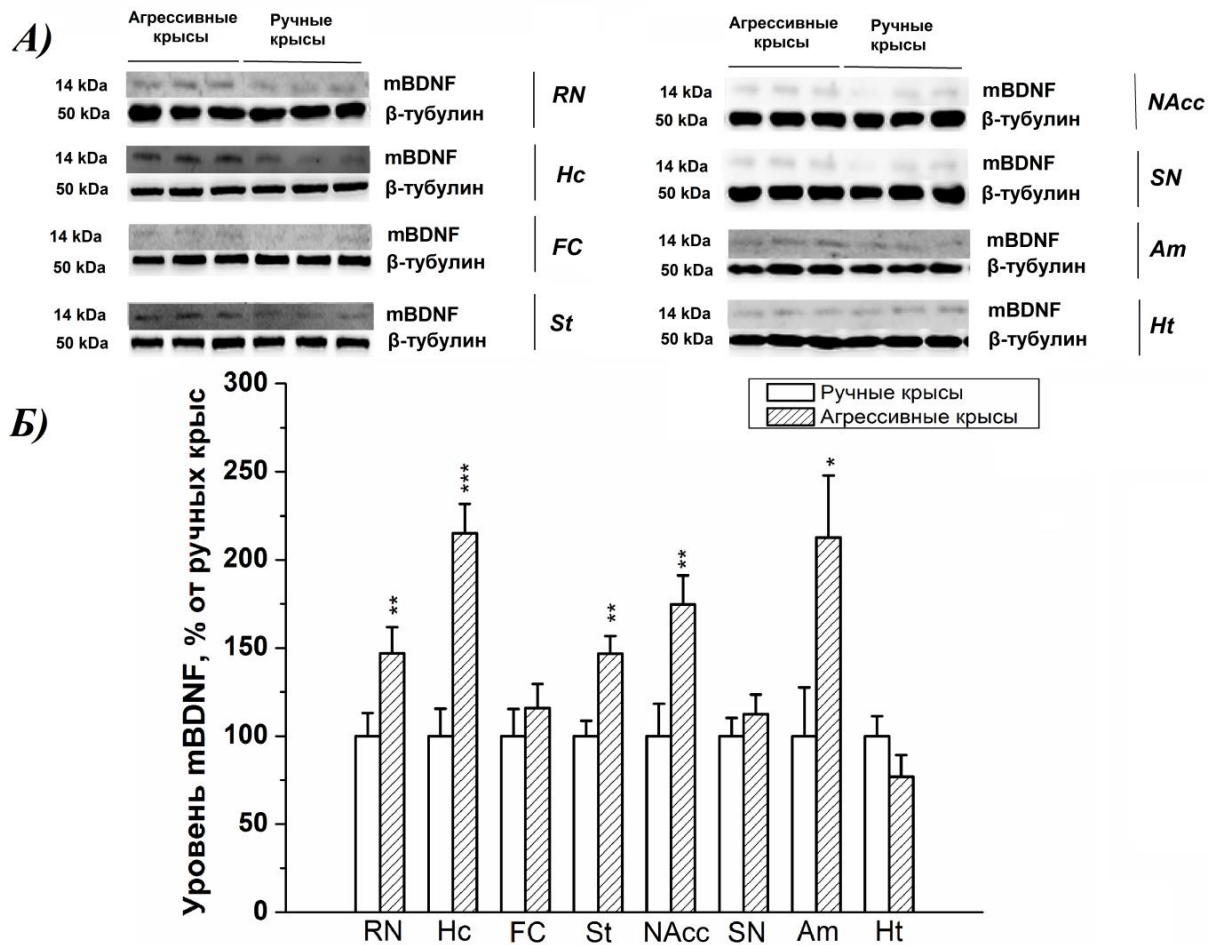


Рис. 10 Уровень белка BDNF в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. А) Результат иммуноблота на мембране; Б) Количественная оценка интенсивности хемилюминесцентного сигнала. Уровень белка BDNF представлен в относительных единицах, нормализованных на соответствующий уровень β -тубулина. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$ – по сравнению с ручными животными.

Во фронтальной коре ($F_{(1,11)}=0.61$, $p=0.45$), чёрной субстанции ($F_{(1,10)}=0.63$, $p=0.45$), а также в гипоталамусе ($F_{(1,11)}=1.86$, $p=0.20$) не было найдено достоверных различий между агрессивными и ручными животными (Рис. 10).

3.3 Экспрессия GDNF в мозге крыс с генетической предрасположенностью к высокой агрессивности или к её отсутствию

Значительные различия в экспрессии GDNF были выявлены между крысами с высоким уровнем генетически детерминированного агрессивного поведения или его отсутствием. У агрессивных животных по сравнению с ручными было обнаружено достоверное увеличение уровня мРНК гена *Gdnf* в области ядер шва среднего мозга ($F_{(1,14)}=16.59$, $p<0.001$) (Рис. 11).

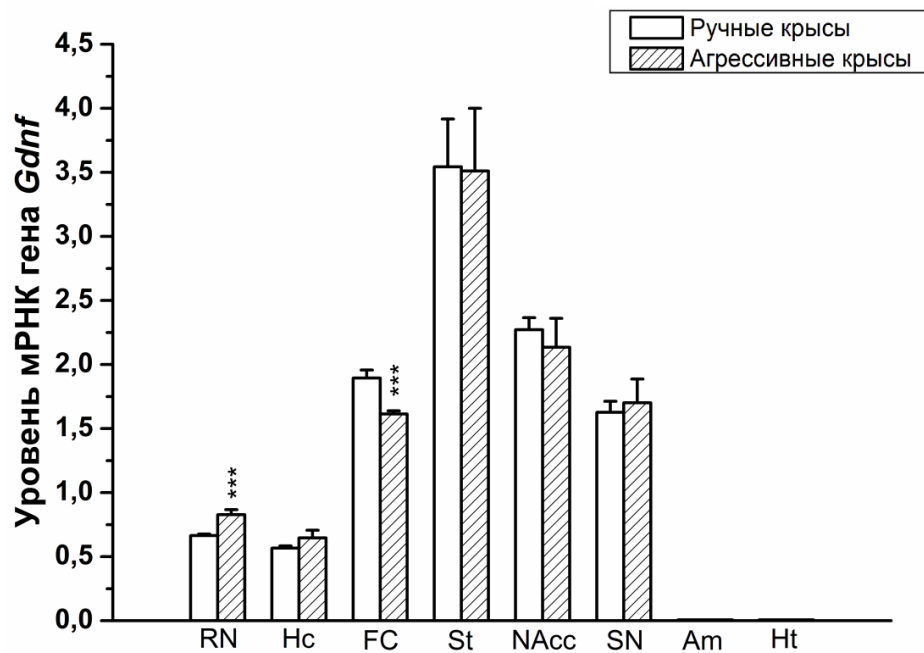


Рис. 11 Уровень мРНК гена *Gdnf* в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. RN – ядра шва среднего мозга, Hc- гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. Экспрессия генов представлена как число копий кДНК соответствующего гена, отнесённых на 100 копий гPol2. *** $p<0.001$ – по сравнению с ручными животными.

Противоположные изменения были выявлены во фронтальной коре ($F_{(1,11)}=19.49$, $p<0.001$) (рис. 11). В то же самое время в гиппокампе ($F_{(1,13)}=1.45$,

$p=0.25$), стриатуме ($F_{(1,14)}=0.003$, $p=0.96$), прилежащих ядрах ($F_{(1,11)}=0.27$, $p=0.61$) и чёрной субстанции ($F_{(1, 14)}=0.13$, $p=0.73$) достоверных различий между агрессивными и ручными крысами обнаружено не было. Также нужно отметить, что в миндалевидной области и гипоталамусе мРНК данного гена не определялась.

Было выявлено снижение уровня proGDNF в области ядер шва среднего мозга у крыс с высоким уровнем генетически детерминированной агрессии ($F_{(1,10)}=12.89$, $p<0.01$) (Рис. 12).

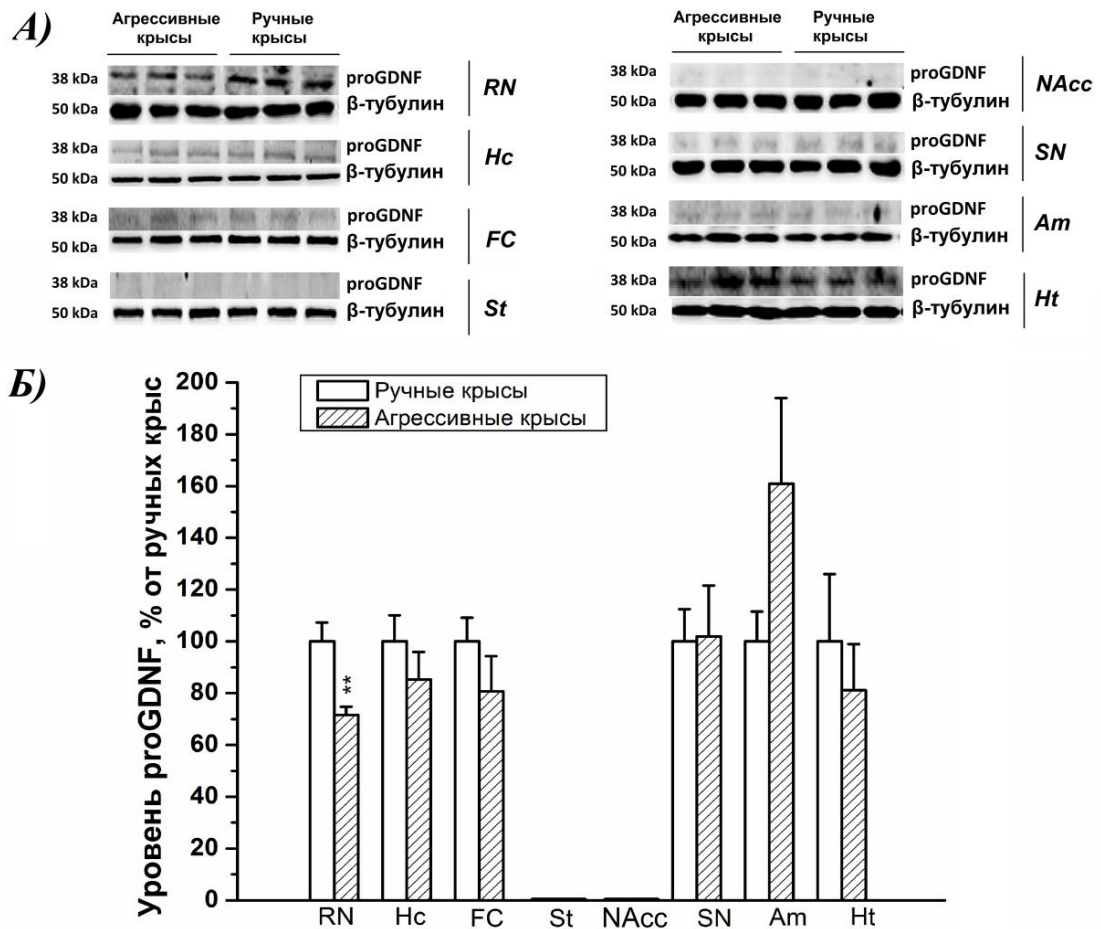


Рис. 12 Уровень белка proGDNF в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. А) Результат иммуноблота на мембране; Б) Количественная оценка интенсивности хемилюминесцентного сигнала. Уровень белка proGDNF представлен в относительных единицах, нормализованных на соответствующий уровень β -тубулина. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. ** $p<0.01$ – по сравнению с ручными животными.

В остальных исследуемых структурах статистически значимых различий обнаружено не было ($F_{(1,11)}=0.99$, $p=0.34$ для гиппокампа, $F_{(1,12)}=1.39$, $p=0.26$ для фронтальной коры, $F_{(1,10)}=0.007$, $p=0.94$ для чёрной субстанции, $F_{(1,10)}=2.23$, $p=0.17$ для миндалевидного комплекса, $F_{(1,7)}=0.32$, $p=0.59$ для гипоталамуса) (Рис. 12). Более того, в стриатуме и прилежащих ядрах proGDNF не детектировался.

Интересно отметить, что в мозге исследуемых крыс было выявлено две формы зрелого GDNF – мономерная (24 kDa) и димерная (32 kDa). Также привлекает внимание, что крысы с высоким уровнем вызванной страхом агрессивности отличаются от ручных как по уровню мономерной, так и по уровню димерной формы данного белка.

Было обнаружено двукратное увеличение уровня мономера GDNF в области ядер шва среднего мозга ($F_{(1,10)}=9.19$, $p<0.01$), а также в миндалевидном комплексе ($F_{(1,7)}=7.46$, $p<0.05$) высокоагрессивных животных по сравнению с ручными (Рис. 13). Вместе с тем достоверно более высокий уровень мономерного GDNF был найден в чёрной субстанции ($F_{(1,11)}=5.49$, $p<0.05$) агрессивных крыс. Но в то же время в гиппокампе ($F_{(1,12)}=0.32$, $p=0.58$), стриатуме ($F_{(1,12)}=2.51$, $p=0.14$) и гипоталамусе ($F_{(1,9)}=0.59$, $p=0.46$) не было выявлено различий между исследуемыми животными (Рис. 13). Кроме того, во фронтальной коре и прилежащих ядрах мономерная форма белка не была обнаружена.

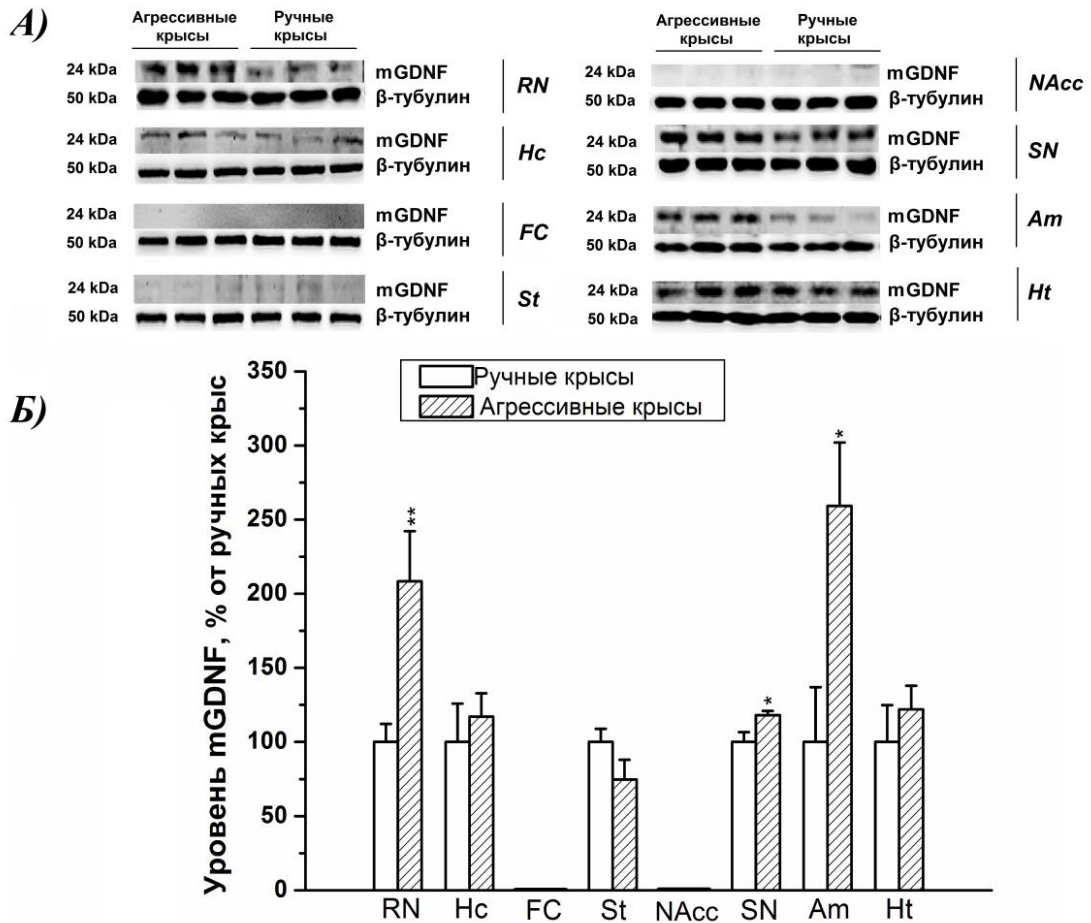


Рис. 13 Уровень белка GDNF в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. А) Результат иммуноблота на мембране; Б) Количественная оценка интенсивности хемилюминесцентного сигнала. Уровень белка GDNF представлен в относительных единицах, нормализованных на соответствующий уровень β -тубулина. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ – по сравнению с ручными животными.

В отличие от мономерной, димерная форма GDNF была зафиксированная во всех исследуемых структурах мозга.

При этом в гиппокампе высокоагрессивных крыс наблюдалось снижение уровня димеров GDNF ($F_{(1,9)}=6.15$, $p < 0.05$), тогда как в миндалевидном комплексе, наоборот, продемонстрировано увеличение ($F_{(1,11)}=34.97$, $p < 0.001$) по сравнению с ручными животными (Рис. 14). В остальных исследуемых структурах – ядрах шва среднего мозга ($F_{(1,12)}=0.004$, $p=0.95$), фронтальной коре ($F_{(1,12)}=0.69$, $p=0.42$), стриатуме ($F_{(1,11)}=0.002$, $p=0.97$), прилежащих ядрах ($F_{(1,12)}=0.02$, $p=0.90$), чёрной

субстанции ($F_{(1,11)}=2.93$, $p=0.12$) и гипоталамусе ($F_{(1,8)}=0.31$, $p=0.59$) – не было обнаружено никаких различий (Рис. 14).

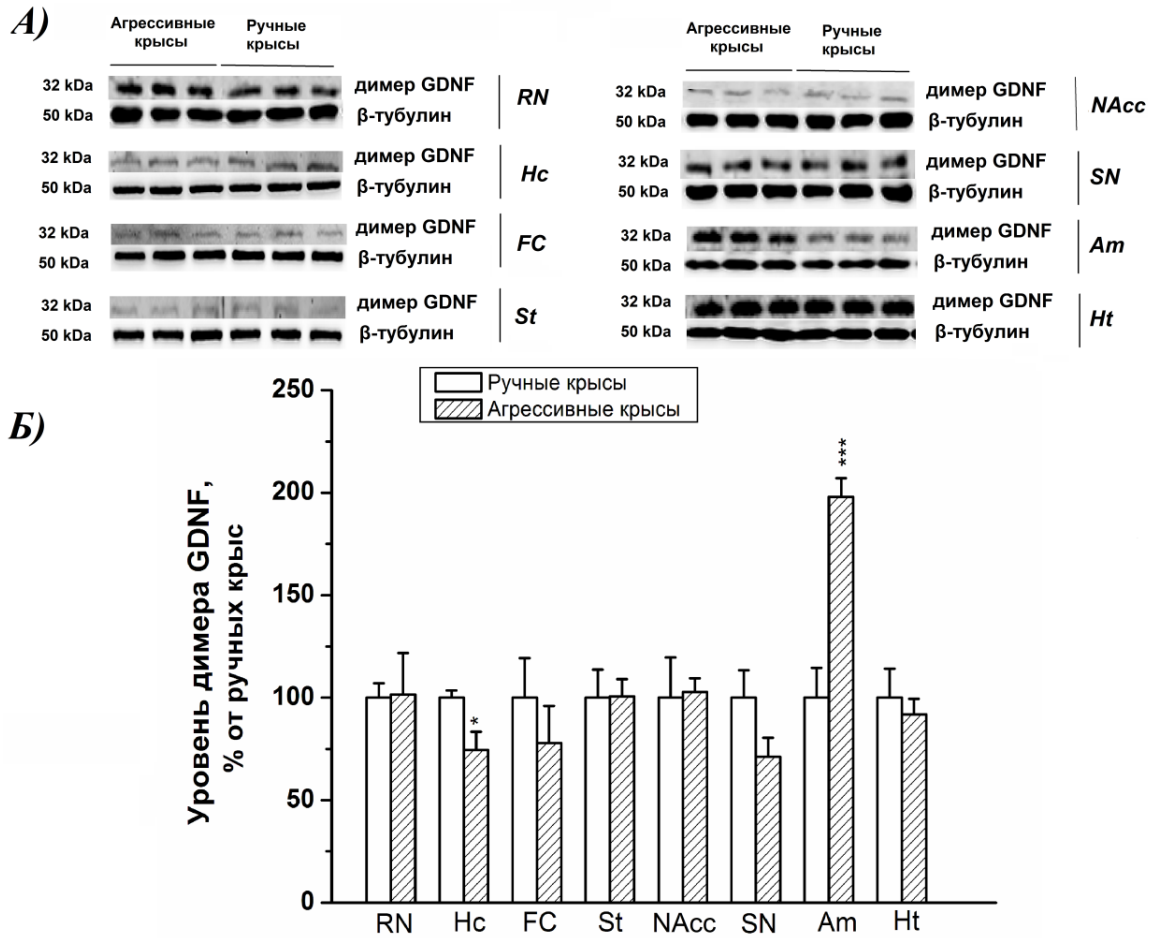


Рис. 14 Уровень димерной формы белка GDNF в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. А) Результат иммуноблота на мембране; Б) Количественная оценка интенсивности хемилюминесцентного сигнала. Уровень белка представлен в относительных единицах, нормализованных на соответствующий уровень β -тубулина. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ – по сравнению с ручными животными.

3.4 Экспрессия CDNF в мозге крыс с генетической предрасположенностью к высокой агрессивности или к её отсутствию

Крысы с генетически детерминированным агрессивным поведением и его отсутствием значительно различаются как по уровню мРНК гена, кодирующего белок CDNF, так и по уровню самого белка и его предшественника preCNDF.

Практически во всех исследуемых структурах мозга высокоагрессивных животных было выявлено увеличение уровня мРНК гена *Cdnf* по сравнению с ручными крысами. Двукратное увеличение уровня мРНК было обнаружено в области ядер шва среднего мозга ($F_{(1,14)}=119.28$, $p<0.001$), гиппокампе ($F_{(1,14)}=26.15$, $p<0.001$) и гипоталамусе ($F_{(1,14)}=16.10$, $p<0.001$). Значительное увеличение было продемонстрировано во фронтальной коре ($F_{(1,11)}=31.38$, $p<0.001$) и чёрной субстанции ($F_{(1,14)}=15.72$, $p<0.001$) агрессивных животных по сравнению с ручными (Рис. 15). Также достоверно более высокий уровень мРНК гена *Cdnf* был обнаружен в прилежащих ядрах высокоагрессивных крыс ($F_{(1,10)}=5.35$, $p<0.05$). В то же время в стриатуме ($F_{(1,12)}=1.37$, $p=0.27$) и миндалевидном комплексе ($F_{(1,14)}=1.20$, $p=0.29$) никаких различий между агрессивными и ручными крысами обнаружено не было (Рис. 15).

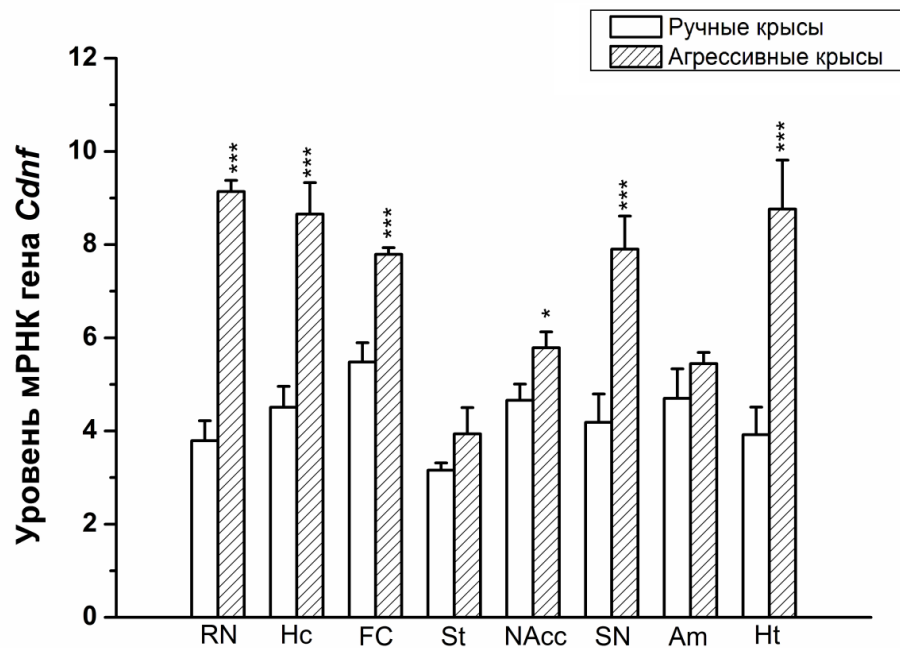


Рис. 15 Уровень мРНК гена *Cdnf* в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. RN – ядра шва среднего мозга, Hc- гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. Экспрессия генов представлена как число копий кДНК соответствующего гена на 100 копий rPol2. * $p<0.05$; *** $p<0.001$ – по сравнению с ручными животными.

Значительные различия в уровне мРНК гена *Cdnf*, однако, не сопровождались столь же значительными различиями в уровне как зрелой формы

белка CDNF, так и его предшественника preCDNF. Так было показано, что у высокоагрессивных крыс уровень белка preCDNF значительно выше в гиппокампе ($F_{(1,10)}=7.12$, $p<0.05$) и гипоталамусе ($F_{(1,11)}=12.20$, $p<0.01$), тогда как во фронтальной коре ($F_{(1,10)}=6.05$, $p<0.05$), наоборот, наблюдается достоверное снижение уровня данного белка по сравнению с ручными животными (Рис. 16). В то же время в области ядер шва среднего мозга ($F_{(1,11)}=2.30$, $p=0.16$), стриатуме ($F_{(1,11)}=2.01$, $p=0.18$), прилежащих ядрах ($F_{(1,10)}=2.11$, $p=0.18$), чёрной субстанции

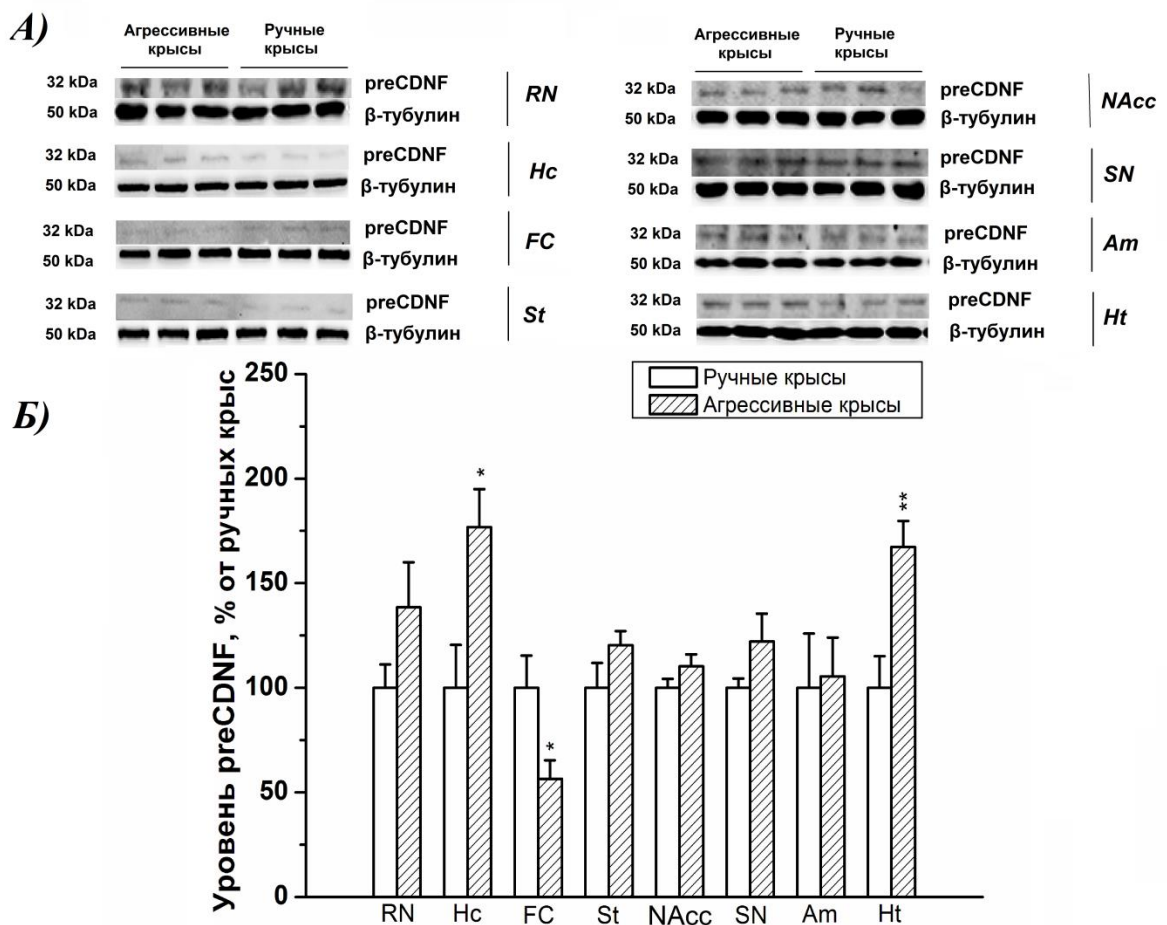


Рис. 16 Уровень белка preCDNF в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. А) Результат иммуноблота на мембране; Б) Количественная оценка интенсивности хемилюминесцентного сигнала. Уровень белка preCDNF представлен в относительных единицах, нормализованных на соответствующий уровень β -тубулина. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. * $p<0.05$; ** $p<0.01$ – по сравнению с ручными животными.

($F_{(1,10)}=2.49$, $p=0.15$) и миндалевидном комплексе ($F_{(1,11)}=0.03$, $p=0.87$) не было обнаружено достоверных отличий между агрессивными и неагрессивными крысами (Рис. 16).

Что касается зрелой формы белка, то она детектировалась не во всех исследованных структурах. В стриатуме, прилежащих ядрах, миндалевидном комплексе и гипоталамусе зрелой формы белка CDNF найдено не было (Рис. 17).

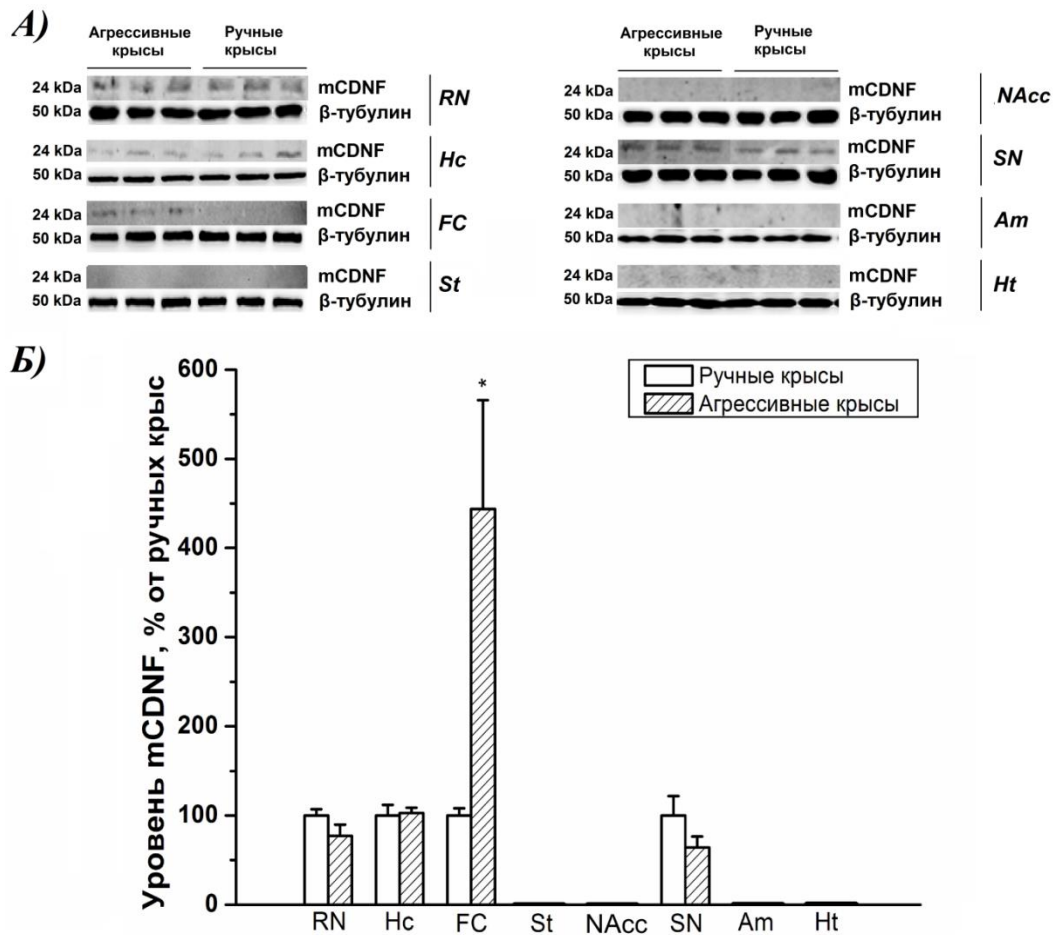


Рис. 17 Уровень белка CDNF в структурах мозга у высокоагрессивных и ручных крыс. А) Результат иммуноблота на мембране; Б) Количественная оценка интенсивности хемилюминесцентного сигнала. Уровень белка CDNF представлен в относительных единицах, нормализованных на соответствующий уровень β -тубулина. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус. * $p < 0.05$ – по сравнению с ручными животными.

Среди структур, в которых удалось обнаружить данную форму белка, статистически значимые различия были выявлены только во фронтальной коре. В этой структуре наблюдалось достоверное увеличение уровня белка CDNF у

высокоагрессивных крыс по сравнению с ручными ($F_{(1,9)}=6.48$, $p<0.05$) (Рис. 14). В ядрах шва среднего мозга ($F_{(1,10)}=2.05$, $p=0.18$), гиппокампе ($F_{(1,10)}=0.04$, $p=0.84$) и чёрной субстанции ($F_{(1,6)}=1.42$, $p=0.28$) различия между исследуемыми животными выявлены не были (Рис. 17).

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Результатом многолетнего отбора диких крыс на высокий уровень агрессивной реакции на человека или на её отсутствие стало создание двух линий животных, значительно отличающихся по выраженности защитно-оборонительного агрессивного поведения – совершенно неагрессивных крыс и крайне агрессивных, демонстрирующих максимальные баллы в тесте на перчатку.

Кроме того, крысы, селекционированные в течение 85 поколений на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии или на её отсутствие, также демонстрируют значительные различия, как в выраженности агрессии хищника, так и в социальном поведении. Нами обнаружено усиление хищнической агрессии и асоциального поведения у крыс, генетически предрасположенных к агрессии, вызванной страхом, по сравнению с неагрессивными животными. Вместе с этим, агрессивные и ручные крысы не отличались по выраженности межсамцовой агрессии, что указывает на различные механизмы, лежащие в основе регуляции защитно-оборонительной и межсамцовой агрессии.

Известно, что ювенильные самцы могут вызывать у взрослых самцов только социальный интерес, но не агрессивное поведение, в противном случае, этот тест позволяет выявить асоциальное патологическое поведение (инфантицид) (Vishnivetskaya et al., 2007; Takahashi, Miczek, 2014). В данном эксперименте было показано, что длительная селекция на высокий уровень агрессии, вызванной страхом, привела к значительному усилению инфантицида. Необходимо подчеркнуть, что, вместе со снижением латентного времени атаки, агрессивные крысы также продемонстрировали увеличение латентного времени первого неагрессивного социального контакта, что указывает на нарушения социального поведения у этих животных. Эти данные, совместно с результатами о повышенной реакции испуга у агрессивных крыс, полученными ранее (Науменко и др., 2009), позволяют предположить существенную роль страха, как в снижении латентного времени атаки, так и в увеличении латентного времени социального контакта у данных животных.

В то же время, недавно было показано, что ручные и агрессивные крысы не отличаются по уровню страха в тесте открытого поля (Кожемякина и др., 2016). Это позволило авторам вышеуказанного исследования сделать предположение, что реакция на перчатку у агрессивных крыс имеет иную мотивационную природу и связана либо с избирательным страхом на специфический предмет, каковым является перчатка, либо носит характер инструментальной агрессии, имеющей исключительно демонстративный характер (Кожемякина и др., 2016). Также авторы исследования отмечают отсутствие у высокоагрессивных крыс должной нейроэндокринной базы. Так, в исследовании Прасоловой с соавторами (Прасолова и др., 2014) было обнаружено, что к 78-му поколению селекции уровни кортикостерона между ручными и агрессивными крысами выровнялись, а стрессовый ответ у ручных животных стал даже более выраженным. Однако, полученные нами данные о значительном усилении хищнической агрессии и сниженном латентном времени нападения на ювенильного самца, противоречат представлению о демонстративном характере агрессивного поведения у крыс с генетически детерминированной агрессией, вызванной страхом. Представляется вероятным, что длительная селекция на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии усилила и другие виды агрессивного поведения, результатом чего стало повышение патологической агрессии.

В ходе проведённых экспериментов, нами выявлено существенное увеличение экспрессии НТФ в ряде структур головного мозга высокоагрессивных крыс. В частности, были обнаружены изменения в экспрессии BDNF, отражающие общее увеличение экспрессии данного НТФ (табл. 4). Это хорошо соотносится с данными о повышенном уровне BDNF у мышей линии АВН, с высоким уровнем агрессивности, вызванной изоляцией (Lang et al, 2009). Также полученные нами данные согласуются с целым рядом работ, показывающих увеличение уровня BDNF при актах повторной агрессии и победах в агонистических взаимодействиях (Fiore et al, 2003; Kudryavtseva et al, 2010; Taylor et al, 2011).

Вместе с этим, выявленная нами связь между высоким уровнем экспрессии BDNF и агрессивным поведением противоречит данным, полученным на животных с различными типами нокаута гена, кодирующего BDNF. Однако как уже отмечалось в Главе 1, первичный дефицит BDNF, приводящий к существенным

нарушениям в закладке и функциях 5-HT системы, сам по себе является мощным триггером развития высокоагрессивного фенотипа. Следовательно, в данном случае мы можем говорить о разных механизмах развития агрессивного поведения, противоположным образом вовлекающих BDNF.

Таблица 4

Изменения в экспрессии BDNF в различных структурах мозга высокоагрессивных крыс по сравнению с ручными

	RN	Hc	FC	St	NAcc	SN	Am	Ht
<i>Bdnf</i>	↑	NS	↑	NS	↑	NS	↑	↑
proBDNF	NS	↑	↓	NS	↑	NS	↑	NS
BDNF	↑	↑	NS	↑	↑	NS	↑	NS

Примечание: NS – не достоверны (non significant); ↑ (↓) – повышение (снижение) у агрессивных крыс по сравнению с ручными. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус.

Примечательно, что высокий уровень экспрессии BDNF обнаружен нами в миндалевидном комплексе крыс, селекционированных на высокий уровень агрессии. Широко известно, что данная структура мозга участвует в регуляции агрессивного поведения, а также является ключевой в консолидации памяти о страхе и поражении (Miczek et al., 2007). В ряде работ показано, что вызванное экспериментально нарушение в созревании зрелого BDNF из предшественника proBDNF в миндалевидном комплексе приводило к существенному снижению памяти о страхе (Ou, Gean, 2007) и поражении (Dulka et al., 2016). Таким образом, наши данные указывают на то, что повышение экспрессии BDNF в данной структуре мозга может быть связано с регуляцией памяти о страхе у крыс, которых в течение 85 поколений отбирали на высокий уровень агрессии, вызванной именно страхом. Также в консолидации и реконсолидации памяти о страхе (в основном контекстуальной) значительную роль играет гиппокамп (Izquierdo et al., 2016), в котором у высокоагрессивных крыс наблюдается значительное увеличение уровня белка BDNF. Поскольку общепринята ключевая роль BDNF в клеточных процессах

консолидации и инициации памяти (Lu et al., 2014), можно предположить, что усиление экспрессии данного НТФ в гиппокампе высокоагрессивных крыс способствует реализации у них памяти о страхе. Кроме того, победа в схватках (конфликт-индуцированное обучение) повышает уровень BDNF в гиппокампе (Taylor et al., 2011). Все это указывает на то, что высокий базовый уровень BDNF в свою очередь может создавать условия для значительной предрасположенности высокоагрессивных крыс к агонистическому поведению.

Обращает на себя внимание и высокая экспрессия BDNF в прилежащих ядрах высокоагрессивных крыс. Данная структура мозга не только отвечает за усиление рефлекторных ответов самцов-доминантов в агрессивных столкновениях, но и в равной степени вовлечена в реакцию социального избегания при поражении в агонистических контактах (Takahashi, Miczek, 2014). В целом активность прилежащих ядер характеризует как индивидуальную реакцию на агрессивную конфронтацию, так и готовность к такому событию (Miczek et al., 2007). Литературные данные в свою очередь указывают на то, что сам BDNF и BDNF-TrkB сигнализация в прилежащих ядрах может играть двойственную роль, одновременно усиливая восприимчивость индивида к социальному избеганию (Wook Koo et al., 2016) и, в то же время, минимизирует последствия стресса путём снижения концентрации кортикостерона с последующим антидепрессантным эффектом (De Vry et al., 2016). В соответствии с представлениями о функциях прилежащих ядер в агонистическом поведении и роли BDNF, можно предположить, что усиление экспрессии данного НТФ может создавать условия, как для социального избегания, так и для высокой готовности агрессивных крыс вступать в конфронтацию. Выявленные нами признаки усиленной агрессивности и асоциального поведения подтверждают данное предположение.

Нами также было обнаружено повышение экспрессии BDNF в области ядер шва среднего мозга высокоагрессивных крыс. К настоящему времени накопилось значительное число свидетельств тесного взаимодействия BDNF и 5-НТ системы мозга (Nomberg et al., 2014), демонстрирующих значительную роль данного НТФ как в созревании, так и дальнейшем функционировании 5-НТ нейронов. Поскольку ранее сообщалось о снижении активности 5-НТ системы у крыс, подвергшихся отбору на высокий уровень агрессивности по отношению к человеку, либо её

отсутствию (Porova et al, 1998; Porova et al, 2005; Kondaurova et al, 2016), то можно предположить участие BDNF в поддержании и защите 5-НТ нейронов. Эти данные интересны в свете работ, посвящённых различным вариантам нокаута гена *Bdnf*, показавшим прямую зависимость экспрессии и внутриклеточной сигнализации 5-НТ_{1A} и 5-НТ_{2A} рецепторов от количества BDNF (Lyons et al., 1999; Hensler et al, 2003; Rios et al., 2006; Klein et al., 2010).

Неоднозначные изменения выявлены во фронтальной коре крыс, селекционированных на высокий уровень агрессии, вызванной страхом. Повышение уровня мРНК сопровождалось снижением уровня proBDNF, но в то же время не отражалось на уровне зрелого белка. Причина данной рассогласованности в уровнях мРНК и различных форм белка может лежать в сложной регуляции экспрессии BDNF. В частности, существенный вклад могут вносить различные функциональные транскрипты BDNF, экспрессия и распределение которых в мозге может различаться на разных этапах развития (Perovic et al., 2013). Хочется отметить, что фронтальная кора – единственная из исследованных нами структур, где наблюдается выраженный дисбаланс в процессе созревания белка BDNF. В большинстве остальных структур просматривается определённая согласованность между уровнем proBDNF и зрелой формой, что указывает на усиление экспрессии и, как следствие, функций именно зрелого белка BDNF.

Также изменения в экспрессии затронули и GDNF (табл. 5). Так, нами наблюдалось значительное увеличение экспрессии данного НТФ в области ядер шва среднего мозга у крыс с генетически-детерминированным агрессивным поведением, вызванным страхом по отношению к человеку. Было обнаружено увеличение уровней как мРНК гена *Gdnf*, так и зрелого белка мономера, но при этом в уровне белка-предшественника proGDNF детектировано снижение по сравнению с ручными животными. Ядра шва среднего мозга являются основной структурой 5-НТ системы, где происходит синтез серотонина, и начинаются все проекции 5-НТ нейронов, и увеличение экспрессии GDNF в данной области, скорее всего не является случайным.

В литературе имеются свидетельства о взаимодействии GDNF и 5-НТ системы. Показано, что в клеточных культурах GDNF значительно увеличивает размер тел 5-НТ нейронов и повышает число и длину первичных

нейритов/нейронов (Ducray et al., 2006). В наших предыдущих исследованиях мы продемонстрировали, что при однократном внутривенном введении GDNF повышал экспрессию генов, кодирующих TGF- β 2, 5-HT $_{1A}$ и 5-HT $_{2A}$ рецепторы (Naumenko et al., 2013; Цыбко и др., 2014).

Таблица 5

Изменения в экспрессии GDNF в различных структурах мозга высокоагрессивных крыс по сравнению с ручными

	RN	Hc	FC	St	NAcc	SN	Am	Ht
<i>Gdnf</i>	↑	NS	↓	NS	NS	NS	-	-
proGDNF	↓	NS	NS	-	-	NS	NS	NS
GDNF	↑	NS	-	NS	-	↑	↑	NS
dimerGDNF	NS	↓	NS	NS	NS	NS	↑	NS

Примечание: NS – не достоверны (non significant); ↑ (↓) – повышение (снижение) у агрессивных крыс по сравнению с ручными. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус.

В свою очередь, серотонин (в основном через 5-HT $_{2A}$ рецепторы) активирует синтез и секрецию GDNF (Hisaoka et al., 2004; Tsuchioka et al., 2008). Можно предположить, что, как и в случае с BDNF, GDNF участвует в защите и поддержании 5-НТ нейронов.

Также в области ядер шва среднего мозга обнаружены противоположные изменения в уровнях белка предшественника и зрелой мономерной формы GDNF у агрессивных животных по сравнению с ручными. Также привлекает внимание отсутствие в стриатуме и прилежащих ядрах proGDNF. В первую очередь, это указывает на сложные механизмы, лежащие в основе трансляции, созревания и распределения GDNF в головном мозге. С другой стороны, GDNF имеет сложный механизм посттранскрипционной модификации. Как уже было сказано ранее в обзоре литературы, мРНК гена *Gdnf* транслируется в proGDNF с последующим специфическим процессингом белка (Noori-Zadeh et al., 2014), который может привести к снижению proGDNF и увеличению мономера GDNF.

Интересно отметить, что в отличие от проформы и мономерного зрелого белка, димерная форма GDNF присутствует во всех исследованных нами структурах головного мозга крыс. Факт гомодимеризации GDNF был отмечен ещё в первой работе посвящённой данному НТФ (Lin et al, 1993), и сегодня эта его особенность хорошо известна (Eutenauer et al., 2013). Тем не менее, данных о вовлечении димеров GDNF в регуляцию каких-либо форм поведения до настоящего времени не было.

Привлекает наше внимание, что в гипоталамусе и миндалевидном комплексе не было зафиксировано мРНК гена кодирующего GDNF, но обнаружено присутствие всех детектируемых форм данного белка. Известно, что рецепторы GDNF экспрессируются во многих гипоталамических областях (Golden et al., 1998). Кроме того, накопление GDNF в гипоталамусе сопровождается значительным повышением концентрации ДА (Larchak et al., 1997). В то же время белок и рецепторы GDNF наблюдаются и в миндалевидном комплексе (Balaszczuk et al., 2013; Maheu et al, 2015). Всё это указывает на то, что в указанные структуры мозга GDNF поступает уже после трансляции. Внутриклеточный транспорт белка GDNF плохо изучен, однако имеющиеся данные говорят о наличии как anterogradного, так и retrogradного транспорта в пределах ДА системы мозга (Ito, Enomoto, 2016). Также, по некоторым данным, GDNF может синтезироваться и транспортироваться по ГАМКергическим нейронам (Hidalgo-Figueroa et al., 2012). Таким образом, GDNF может попадать в миндалевидный комплекс и гипоталамус по проекциям ДА и ГАМКергических нейронов. Обращает на себя внимание значительное увеличение уровня как зрелой, так и димерной формы белка GDNF в миндалевидном комплексе высокоагрессивных крыс по сравнению с ручными. Вероятно высокий уровень мономерной и димерной формы GDNF в данной структуре мозга, а также мономерной формы в чёрной субстанции направлен на усиление дофаминергической иннервации и/или активности ДА нейронов. Однако данное предположение является в большей степени гипотетическим, поскольку на сегодняшний день существует всего несколько работ, в которых было бы проведено сравнительное исследование активности ДА системы у высокоагрессивных и ручных крыс. Одна из работ, касающаяся данного вопроса, выполнена Э. М. Никулиной и посвящена исследованию уровня ДА и плотности

D1 и D2 рецепторов в мезолимбических областях мозга ручных крыс по сравнению с крысами дикого типа (Nikulina et al., 1992). В исследовании Albert с соавт., (2008) сравнивался уровень ДА уже между ручными и агрессивными крысами, но достоверных различий выявлено не было.

Неожиданные и интересные результаты были получены при исследовании экспрессии CDNF (табл. 6). мРНК данного НТФ была обнаружена во всех исследуемых структурах, что хорошо согласуется с литературными данными о широком паттерне экспрессии CDNF (Lindholm et al., 2007). В то же время стоит отметить, что в литературе сведения об экспрессии CDNF в области ядер шва среднего мозга, прилежащих ядрах, а также миндалевидном комплексе отсутствуют. Интересно, что практически во всех исследованных нами структурах головного мозга (кроме стриатума и миндалевидного комплекса) высокоагрессивных крыс наблюдается увеличение количества транскриптов гена *Cdnf* по сравнению с ручными животными. Однако, несмотря на то, что preCDNF был детектирован во всех исследуемых структурах, зрелый белок CDNF обнаружен только в половине (ядра шва, гиппокамп, фронтальная кора и чёрная субстанция).

Таблица 6

Изменения в экспрессии CDNF в различных структурах мозга высокоагрессивных крыс по сравнению с ручными

	RN	Hc	FC	St	NAcc	SN	Am	Ht
<i>Cdnf</i>	↑	↑	↑	NS	↑	↑	NS	↑
preCDNF	NS	↑	↓	NS	NS	NS	NS	↑
CDNF	NS	NS	↑	-	-	NS	-	-

Примечание: NS – не достоверны (non significant); ↑ (↓) – повышение (снижение) у агрессивных крыс по сравнению с ручными. RN – ядра шва среднего мозга, Hc – гиппокамп, FC – фронтальная кора, St – стриатум, NAcc – прилежащие ядра, SN – чёрная субстанция, Am – миндалевидный комплекс, Ht – гипоталамус.

Показано, что в гиппокампе и гипоталамусе наблюдается увеличение уровня белка preCDNF, но без достоверных изменений в зрелой форме. При этом у крыс с генетически детерминированным высоким уровнем агрессивного поведения было

зафиксировано увеличение уровня зрелого CDNF во фронтальной коре с одновременным снижением в уровне преCDNF в этой структуре. Это может быть объяснено особенностями синтеза и созревания CDNF. Однако детали данных процессов до сих пор неясны. В частности неизвестно различаются ли функционально преCDNF и зрелый белок. Хотя полученные нами данные косвенно указывают на то, что преCDNF может быть функционально активен.

Известно, что по механизму действия CDNF существенно отличается от остальных НТФ. Для осуществления его функций необходимо наличие каких-либо патологических процессов, таких как воспаление или стресс ЭПР (Voutilainen et al., 2015). Ранее нами было показано увеличение порога нейронального апоптоза у высокоагрессивных крыс, что в частности выражалось в снижении уровня мРНК гена *Bax* в гиппокампе данных животных (Ильчибаева и др., 2016). В то же время известно, что CDNF ингибирует апоптоз через прямое взаимодействие с BAX (Hellman et al., 2011). Исходя из этого, усиление экспрессии CDNF в гиппокампе может быть напрямую связано со снижением экспрессии гена проапоптотического белка BAX. Кроме того, нами было выявлено, что в гипоталамусе высокоагрессивных крыс наблюдается повышенный уровень мРНК гена, кодирующего каспазу-3, основной эффектор апоптоза (Ильчибаева и др., 2016). Таким образом, на основании имеющихся в литературе данных, можно предположить, что усиление транскрипционной активности гена *Cdnf* и повышение уровня самого белка в различных структурах могут быть направлены на компенсацию проапоптотических процессов в мозге высокоагрессивных крыс. Точное представление о том, каким образом и в какой степени данные процессы происходят в мозге этих животных, остаётся предметом дальнейшего исследования.

Также обращает на себя внимание тот факт, что высокий уровень экспрессии CDNF (по крайней мере, его транскриптов) наблюдается как в дофаминергических, так и серотонинергических структурах и их проекционных областях. Таким образом, на основании особенностей биологии CDNF можно заключить, что он имеет универсальный принцип действия, для реализации которого не является принципиальным вовлечение той или иной нейротрансмитерной системы. Другими словами, при наличии клеточного стресса CDNF будет одинаково оказывать свои

эффекты как в ДА, так и в 5-НТ системе мозга. А учитывая тот факт, что активность 5-НТ системы снижена у высокоагрессивных животных, то неудивительно, что мы наблюдаем активацию экспрессии CDNF в исследуемых серотонергических структурах.

Сравнивая изменения в экспрессии исследованных нейротрофических факторов нельзя не отметить как специфические, так и общие для каждого НТФ особенности. Поскольку все исследованные НТФ относятся к разным классам, естественно предположить различные механизмы их действия. В частности, паттерн активности CDNF существенно выделяет его на фоне других нейротрофинов и ростовых факторов. Однако можно заметить и общие особенности, которые связаны с защитой 5-НТ и ДА нейротрансмиттерных систем. Также очень важным является наличие сходным образом направленных изменений в ряде структур головного мозга высокоагрессивных крыс (миндалевидный комплекс, гиппокамп, прилежащие ядра), участвующих в регуляции агрессивного поведения и памяти страха, что свидетельствует о вовлечении BDNF, GDNF и CDNF в формирование фенотипа со значительным уровнем агрессии, вызванной страхом.

Полученные нами данные указывают на тесную связь между защитно-оборонительной, хищнической и патологической агрессией, что позволяет предположить существование общих регуляторных механизмов, лежащих в основе этих типов агрессивного поведения. Ранее было неоднократно показано вовлечение 5-НТ мозга в регуляцию агрессии, вызванной страхом (Naumenko et al., 1989, Naumenko et al., 2013, Popova et al., 1998, Popova et al., 2005), и хищнической агрессии (Nikulina, Popova, 1988). Между агрессивными и неагрессивными крысами была обнаружена существенная разница в метаболизме 5-НТ мозга, а также в функциональной активности 5-НТ_{1A} рецепторов их плотности и экспрессии кодирующего их гена (Naumenko et al., 1989, Popova et al., 2005). Однако, 5-НТ система не является единственным из возможных регуляторных механизмов. Тем более вызывает вопросы участие 5-НТ в регуляции хищнической агрессии у крыс, селекционированных на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии: так введение агонистов 5-НТ_{1A} рецептора не влияло на выраженность агрессии хищника у ручных и агрессивных крыс. Более того, повышенная функциональная

активность 5-НТ системы у ручных животных никак не влияла на данный тип агрессии (Nikulina, 1991). Тот факт, что за прошедшие десятилетия селекции обе линии крыс существенно разошлись в выраженности хищнической агрессии, также не позволяет считать 5-НТ общим регуляторным механизмом, по меньшей мере, для этого типа агрессивного поведения. В то же время, данные об увеличении экспрессии НТФ в мозге высокоагрессивных крыс указывают на то, что сами факторы и, вероятно, опосредуемые ими нейропластические процессы могут вносить существенный вклад в регуляцию генетически детерминированной защитно-оборонительной, хищнической и патологической агрессии.

Таким образом, полученные результаты позволяют сформулировать нейротрофическую гипотезу регуляции агрессивного поведения, которая постулирует необходимость поддержания нужного уровня нейропластических процессов в структурах мозга, участвующих в контроле агрессивного поведения. В соответствии с данной гипотезой, важной составной частью действия НТФ является трофическая поддержка нейротрансмиттерных систем, вовлеченных в агрессию.

ВЫВОДЫ

1. Длительный отбор на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии привёл к усилению хищнической и патологической агрессии, что указывает на тесную связь между данными типами агрессивного поведения.
2. Выявлено значительное повышение уровня мРНК гена *Bdnf* в области ядер шва среднего мозга, миндалевидном комплексе, прилежащих ядрах, гипоталамусе и фронтальной коре высокоагрессивных животных.
3. Обнаружено существенное увеличение уровня белка-предшественника proBDNF и зрелой формы BDNF в гиппокампе, миндалевидном комплексе и прилежащих ядрах агрессивных животных, также у них отмечено повышение уровня зрелого белка BDNF в области ядер шва и стриатуме. Одновременно с этим во фронтальной коре высокоагрессивных крыс наблюдается снижение уровня proBDNF, но без изменений в уровне зрелого белка.
4. Показано повышение уровня мРНК гена *Gdnf* в области ядер шва среднего мозга и снижение во фронтальной коре у агрессивных животных по сравнению с ручными. В миндалевидном комплексе и гипоталамусе исследуемых животных транскрипты данного гена обнаружены не были.
5. У крыс, селекционированных на высокий уровень защитно-оборонительной агрессии, обнаружено снижение уровня белка-предшественника proGDNF в области ядер шва среднего мозга; в стриатуме и прилежащих ядрах данная форма белка не была выявлена. Уровень зрелой мономерной формы белка GDNF оказался достоверно выше в миндалевидном комплексе, чёрной субстанции и области ядер шва среднего мозга высокоагрессивных крыс, в то время как в стриатуме и прилежащих ядрах мономеров GDNF не было обнаружено.
6. Димерная форма белка GDNF выявлена во всех исследованных структурах мозга, при этом в миндалевидном комплексе агрессивных

животных уровень данной формы существенно увеличен, а в гиппокампе снижен.

7. Выявлено значительное увеличение уровня мРНК гена *Cdnf* в большинстве исследованных структур высокоагрессивных крыс за исключением стриатума и миндалевидного комплекса.
8. В гиппокампе и гипоталамусе животных, селекционированных на высокий уровень вызванной страхом агрессии, обнаружено повышение уровня белка предшественника *preCDNF* и, вместе с этим, его снижение во фронтальной коре. В то же время, зрелая форма белка *CDNF* детектировалась только в области ядер шва среднего мозга, гиппокампе, фронтальной коре и чёрной субстанции. При этом у высокоагрессивных животных выявлено увеличение уровня белка *CDNF* во фронтальной коре.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гомазков, О.А. Ростовые и нейротрофические факторы в регуляции трансформации стволовых клеток и нейрогенеза / О.А. Гомазков // Нейрохимия. – 2007. – Т.24 – №2. – С. 101-112
2. Гулевич, Р.Г. Магнитно-резонансная спектроскопия нейрометаболитов в гиппокампе у агрессивных и ручных самцов крыс / Р.Г. Гулевич, А.Е. Акулов, С.Г. Шихевич, Р.В. Кожемякина, И.З. Плюснина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т. 19. – № 4. – С. 432-438.
3. Ильчибаева, Т.В. Экспрессия генов апоптоза в мозге крыс с генетически детерминированной защитно-оборонительной агрессией / Т.В. Ильчибаева, А.С. Цыбко, Р.В. Кожемякина, В.С. Науменко // Мол биол. – 2016. – Т.50. – №5. – С. 1-7.
4. Кожемякина, Р.В. Сравнительный анализ поведения в тесте открытого поля диких серых крыс (*Rattus norvegicus*) и серых крыс, прошедших длительный отбор на толерантное и агрессивное поведение / Р.В. Кожемякина, М.Ю. Коношенко, Д.Г. Сахаров, Д.А. Смагин, А.Л. Маркель // Журн. высш. нервн. деят-сти. – 2016. – Т. 66. – №1. – С. 92-102.
5. Кудрявцева, Н.Н. Агрессивное поведение: генетико-физиологические механизмы / Н.Н. Кудрявцева, А.Л. Маркель, Ю.Л. Орлов // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 18. – № 4/3. – С. 1133-1155.
6. Науменко, В.С. Экспрессия гена серотонинового транспортера и реакция рефлекторного вздрагивания у крыс с генетически детерминированной агрессией, вызванной страхом / В.С. Науменко, Р.В. Кожемякина, И.З. Плюснина, Н.К. Попова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147. – № 1. – С. 86-90
7. Науменко, В.С. Количественное определение экспрессии гена 5-НТ1А серотонинового рецептора в головном мозге / В.С. Науменко, А.В. Куликов // Мол. Биол. – 2006. – Т. 40. – С.37–44.

8. Плюснина, И.З. Внутривидовая межсамцовая агрессия у ручных и агрессивных серых крыс / И.З. Плюснина, М.Ю. Соловьёва // Журн. высш. нервн. деят-сти. – 2010. – Т. 60. – № 2. – С. 175-183.
9. Плюснина, И.З. Некоторые поведенческие и физиологические особенности мутации *nonagouti* у серых крыс при отборе на агрессивность / И.З. Плюснина, Л.Н. Трут, Н.И. Карпушкеева, Т.А. Алехина, И.Н. Оськина // Журн. высш. нервн. деят-сти. – 2003. – Т. 53. – № 6. – С. 730-738.
10. Попова, Н.К. Полиморфизм серотониновых 5-НТ рецепторов как основа полиморфизма серотонина / Н.К. Попова, В.С. Науменко // Росс. Физиол. Журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96. – № 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. Пошивалов, В.П. Этологический атлас для фармакологических исследований на грызунах (мыши, крысы) / В.П. Пошивалов. – М., 1978. – 43 с. Деп. в ВИНТИ 26.07.1978, № 3164-78.
13. Прасолова, Л.А. Эффекты длительного отбора по поведению на стресс-ответ и активность половой системы самцов серых крыс (*Rattus norvegicus*) / Л.А. Прасолова, Ю.Э. Гербек, Р.Г. Гулевич, С.Г. Шихевич, М.Ю. Коношенко, Р.В. Кожемякина, И.Н. Оськина, И.З. Плюснина // Генетика. – 2014. – Т. 50. – № 8. – С. 959-966.
14. Adachi, N. New insight in expression, transport, and secretion of brain-derived neurotrophic factor: Implications in brain-related diseases / N. Adachi, T. Numakawa, M. Richards, S. Nakajima, H. Kunugi // World J Biol Chem. – 2014. – Vol. 5. – №4. – P. 409-428.
15. Agrawal, H.C. Neurochemical and behavioral effects of isolation-rearing in the dog / H.C. Agrawal, M.W. Fox, W.A. Himwich // Life Sci. – 1967. – Vol. 6. – № 1. – P. 71-78.
16. Ahmed, A.O. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and neurocognitive deficits in people with schizophrenia: a meta-analysis / A.O. Ahmed, A.M. Mantini, D.J. Fridberg, P.F. Buckley // Psychiatry Res. – 2015. – Vol. 226. – №1. – P. 1-13.

17. Aid, T. Mouse and rat BDNF gene structure and expression revisited / T. Aid, A. Kazantseva, M. Piirsoo, K. Palm, T. Timmusk // *J Neurosci Res.* – 2007. – Vol. 85. – №3. – P. 525-535.
18. Airaksinen, M. S. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value / M.S. Airaksinen, M. Saarma // *Nat Rev Neurosci.* – 2002. – Vol.3. – №5. – P. 383-394.
19. Airavaara, M. CDNF protects the nigrostriatal dopamine system and promotes recovery after MPTP treatment in mice / M. Airavaara, B.K. Harvey, M.H. Voutilainen, H. Shen, J. Chou, P. Lindholm, M. Lindahl, R.K. Tuominen, M. Saarma, B. Hoffer, Y. Wang // *Cell Transplant.* – 2012. – Vol. 21. – №6. – P. 1213-1223.
20. Airavaara, M. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor reduces ischemic brain injury and promotes behavioral recovery in rats / M. Airavaara, H. Shen, C.C. Kuo, J. Peränen, M. Saarma, B. Hoffer, Y. Wang // *J Comp Neurol.* – 2009. – Vol. 515. – №1. – P. 116-124.
21. Albert, F.W. Phenotypic differences in behavior, physiology and neurochemistry between rats selected for tameness and for defensive aggression towards humans / F.W. Albert, O. Shchepina, C. Winter, H. Römpler, D. Teupser, R. Palme, U. Ceglarek, J. Kratzsch, R. Sohr, L.N. Trut, J. Thiery, R. Morgenstern, I.Z. Plyusnina, T. Schöneberg, S. Pääbo // *Horm. Behav.* – 2008. – Vol. 53. – №3. – P. 413-421.
22. 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. – №2. – P. 155-175.
23. An, J.J. Distinct role of long 3' UTR BDNF mRNA in spine morphology and synaptic plasticity in hippocampal neurons / J.J. An, K. Gharami, G.Y. Liao, N.H. Woo, A.G. Lau, F. Vanevski, E.R. Torre, K.R. Jones, Y. Feng, B. Lu, B. Xu // *Cell.* – 2008. – Vol. 134. – №1. – P. 175-187.
24. Autry, A.E. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders / A.E. Autry, L.M. Monteggia // *Pharmacol Rev.* – 2012. – Vol. 64. – №2. – P. 238-258.

25. Avis, H.H. The neuropharmacology of aggression: a critical review / H.H. Avis // *Psychol Bull.* – 1974. – Vol. 81. – № 1. – P. 47-63.
26. Bäck, S. Gene therapy with AAV2-CDNF provides functional benefits in a rat model of Parkinson's disease / S. Bäck, J. Peränen, E. Galli, P. Pulkki, L. Lonka-Nevalaita, T. Tamminen, M.H. Voutilainen, A. Raasmaja, M. Saarma, P.T. Männistö, R.K. Tuominen // *Brain Behav.* – 2013. – Vol. 3. – №2. – P. 75-88.
27. Balaszczuk, V. Binge alcohol-induced alterations in BDNF and GDNF expression in central extended amygdala and pyriform cortex on infant rats / V. Balaszczuk, C. Bender, G. Pereno, C.A. Beltramino // *Int J Dev Neurosci.* – 2013. – Vol. 31. – №5. – P. 287-296.
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. – №5. – P. 549-553.
29. Baron, R.A. Human Aggression / R.A. Baron, D.R. Richardson. – 2nd ed. – Plenum Press, New York, 1994. – P. 420.
30. Becker, A. Differences between two substrains of AB mice in the opioid system / A. Becker, H. Schröder, M. Brosz, G. Grecksch, R. Schneider-Stock // *Pharmacol Biochem Behav.* – 1997. – Vol. 58. – №3. – P. 763-766.
31. Beeri, M.S. Brain BDNF expression as a biomarker for cognitive reserve against Alzheimer disease progression / M.S. Beeri, J. Sonnen // *Neurology.* – 2016. – Vol. 86. – №8. – P. 702-703.
32. Belozertseva, I.V. Effects of NMDA receptor channel blockade on aggression in isolated male mice / I.V. Belozertseva, A.Y. Bepalov // *Aggress. Behav.* – 1999. – Vol. 25. – P. 381-396.
33. Belyaev, D.K. Destabilizing selection as a factor in domestication / D.K. Belyaev // *J Hered.* – 1979. – Vol. 70. – P. 301-308.
34. Benarroch, E.E. Brain-derived neurotrophic factor: Regulation, effects, and potential clinical relevance / E.E. Benarroch // *Neurology.* – 2015. – Vol. 84. – №16. – P. 1693-1704.
35. Berton, O. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress / O. Berton, C.A. McClung, R.J. Dileone, V. Krishnan,

- W. Renthal, S.J. Russo, D. Graham, N.M. Tsankova, C.A. Bolanos, M. Rios, L.M. Monteggia, D.W. Self, E.J. Nestler // *Science*. – 2006. – Vol. 311. – 5762. – P. 864-868.
36. Binder, D.K. Brain-derived neurotrophic factor / D.K. Binder, H.E. Scharfman // *Growth Factors*. – 2004. – Vol. 22. – №3. – P. 123-131.
37. Blanchard, D.C. Defensive Reactions of “Wild-Type” and “Domesticated” Wild Rats to Approach and Contact by a Threat Stimulus / D.C. Blanchard, N.K. Popova, I. Plyusnina, I.L. Velichko, D. Campbell, R.J. Blanchard, J. Nikulina, E.M. Nikulina // *Aggress. Behav.* – 1994. – Vol. 20. – P. 387-397.
38. Bondar', N.P. The effects of the D1 receptor antagonist SCH-23390 on individual and aggressive behavior in male mice with different experience of aggression / N.P. Bondar', N.N. Kudryavtseva // *Neurosci Behav Physiol.* – 2005. – Vol. 35. - № 2. – P. 221-227.
39. Bosch, O.J. Brain oxytocin correlates with maternal aggression: link to anxiety / O.J. Bosch, S.L. Meddle, D.I. Beiderbeck, A.J. Douglas, I.D. Neumann // *J Neurosci.* – 2005. – Vol. 25. – №29. – P. 6807-6815.
40. Bozzi, Y. Absence of the dopamine D2 receptor leads to a decreased expression of GDNF and NT-4 mRNAs in restricted brain areas / Y. Bozzi, E. Borrelli // *Eur. J. Neurosci.* – 1999. – Vol. 11. – №4. – P. 1275-1284.
41. Branchi, I. Early social enrichment shapes social behavior and nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor levels in the adult mouse brain / I. Branchi, I. D'Andrea, M. Fiore, V. Di Fausto, L. Aloe, E. Alleva // *Biol Psychiatry.* – 2006. – Vol. 60. – №7. – P. 690-696.
42. Breuillaud, L. Deletion of CREB-regulated transcription coactivator 1 induces pathological aggression, depression-related behaviors, and neuroplasticity genes dysregulation in mice / L. Breuillaud, C. Rossetti, E.M. Meylan, C. Mérinat, O. Halfon, P.J. Magistretti, J.R. Cardinaux // *Biol Psychiatry.* – 2012. – Vol. 72. – №7. – P. 528-536.
43. Brunner, H.G. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A / H.G. Brunner, M. Nelen, X.O. Breakefield, H.H. Ropers, B.A. van Oost // *Science*. – 1993. – Vol. 262. – P. 578-580.

44. Budni, J. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease / J. Budni, T. Bellettini-Santos, F. Mina, M.L. Garcez, A.I. Zugno // *Aging Dis.* – 2015. – Vol. 6. – №5. – P. 331-341.
45. Cases, O. Aggressive behavior and altered amounts of brain serotonin and norepinephrine in mice lacking MAOA / O. Cases, I. Seif, J. Grimsby, P. Gaspar, K. Chen, S. Pournin, U. Muller, M. Aguet, C. Babinet, J.C. Shih, E. De Maeyer // *Science.* – 1995. – Vol. 268. – P. 1763-1766.
46. Chan, J.P. Examination of behavioral deficits triggered by targeting Bdnf in fetal or postnatal brains of mice / J.P. Chan, T.J. Unger, J. Byrnes, M. Rios // *Neuroscience.* – 2006. – Vol. 142. – №1. – P. 49-58.
47. Chen, T.J. Are dopaminergic genes involved in a predisposition to pathological aggression? Hypothesizing the importance of "super normal controls" in psychiatric genetic research of complex behavioral disorders / T.J. Chen, K. Blum, D. Mathews, L. Fisher, N. Schnautz, E.R. Braverman, J. Schoolfield, B.W. Downs, D.E. Comings // *Med Hypotheses.* – 2005. – Vol. 65. – №4. – P. 703-707.
48. Chung, S. Association among aggressiveness, neurocognitive function, and the Val66Met polymorphism of brain-derived neurotrophic factor gene in male schizophrenic patients / S. Chung, H.Y. Chung, J. Jung, J.K. Chang, J.P. Hong // *Compr Psychiatry.* – 2010. – Vol. 51. – №4. – P. 367-372.
49. Cohen-Cory, S. Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity / S. Cohen-Cory, A.H. Kidane, N.J. Shirkey, S. Marshak // *Dev Neurobiol.* – 2010. – Vol. 70. – №5. – P. 271-288.
50. Cordero-Llana, Ó. Enhanced efficacy of the CDNF/MANF family by combined intranigral overexpression in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease / Ó. Cordero-Llana, B.C. Houghton, F. Rinaldi, H. Taylor, R.J. Yáñez-Muñoz, J.B. Uney, L.F. Wong, M.A. Caldwell // *Mol Ther.* – 2015. – Vol. 23. – №2. – P. 244-254.
51. D'Anna, K.L. Urocortin 1 and 3 impair maternal defense behavior in mice / K.L. D'Anna, S.A. Stevenson, S.C. Gammie // *Behav Neurosci.* – 2005. – Vol. 119. – P. 1061–1071.

52. de Boer, S.F. 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor agonists and aggression: a pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis / S.F. de Boer, J.M. Koolhaas // *Eur J Pharmacol.* – 2005. – Vol. 526. – №1-3. – P. 125-139.
53. de Boer, S.F. Individual variation in aggression of feral rodent strains: a standard for the genetics of aggression and violence? / S.F. de Boer, B.J. van der Vegt, J.M. Koolhaas // *Behav Genet.* – 2003. – Vol. 33. – №5. – P. 485-501.
54. de Boer, S.F. Somatodendritic 5-HT(1A) autoreceptors mediate the anti-aggressive actions of 5-HT(1A) receptor agonists in rats: an ethopharmacological study with S-15535, alnespirone, and WAY-100635 / S.F. de Boer, M. Lesourd, E. Mocaër, J.M. Koolhaas // *Neuropsychopharmacology.* – 2000. – Vol. 23. – №1. – P. 20-33.
55. De Vry, J. TrkB in the hippocampus and nucleus accumbens differentially modulates depression-like behavior in mice / J. De Vry, T. Vanmierlo, P. Martínez-Martínez, M. Losen, Y. Temel, J. Boere, G. Kenis, T. Steckler, H.W. Steinbusch, M. De Baets, J. Prickaerts // *Behav Brain Res.* – 2016. – Vol. 296. – P. 15-25.
56. Deinhardt, K. Shaping neurons: Long and short range effects of mature and proBDNF signalling upon neuronal structure / K. Deinhardt, M.V. Chao // *Neuropharmacology.* – 2014. – Vol. 76. – Part C. – P. 603-609.
57. Dos Santos, I.M. Symptom dimensional approach and BDNF in unmedicated obsessive-compulsive patients: an exploratory study / I.M. Dos Santos, L. Ciulla, D. Braga, K.M. Ceresér, C.S. Gama, F. Kapczinski, Y.A. Ferrão // *CNS Spectr.* – 2011. – Vol. 16. – №9. – P. 179-189.
58. 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. – №1. – P. 104-112.
59. Dulka, B.N. Proteolytic cleavage of proBDNF into mature BDNF in the basolateral amygdala is necessary for defeat-induced social avoidance /

- B.N. Dulka, E.C. Ford, M.A. Lee, N.J. Donnell, T.D. Goode, R. Prosser, M.A. Cooper // *Learn Mem.* – 2016. – Vol. 23. – №4. – P. 156-160.
60. Emeson, R.B. Food fight: the NPY-serotonin link between aggression and feeding behavior / R.B. Emeson, M.V. Morabito // *Sci STKE.* – 2005. – Vol. 2005. – №277. – pe12.
61. Euteneuer, S. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) induces neuriteogenesis in the cochlear spiral ganglion via neural cell adhesion molecule (NCAM) / S. Euteneuer, K.H. Yang, E. Chavez, A. Leichtle, G. Loers, A. Olshansky, K. Pak, M. Schachner, A.F. Ryan // *Mol Cell Neurosci.* – 2013. – Vol. 54. – P. 30-43.
62. Ferrari, P.F. Accumbal dopamine and serotonin in anticipation of the next aggressive episode in rats / P.F. Ferrari, A.M. van Erp, W. Tornatzky, K.A. Miczek // *Eur J Neurosci.* – 2003. – Vol. 17. – № 2. – P. 371-378.
63. Ferris, C.F. Orally active vasopressin V1a receptor antagonist, SRX251, selectively blocks aggressive behavior / C.F. Ferris, S.F. Lu, T. Messenger, C.D. Guillon, N. Heindel, M. Miller, G. Koppel, F. Robert Bruns, N.G. Simon // *Pharmacol Biochem Behav.* – 2006. – Vol. 83. – №2. – P. 169-174.
64. Fiore, M. Agonistic encounters in aged male mouse potentiate the expression of endogenous brain NGF and BDNF: possible implication for brain progenitor cells' activation / M. Fiore, T. Amendola, V. Triaca, P. Tirassa, E. Alleva, L. Aloe // *Eur J Neurosci.* – 2003. – Vol. 17. – №7. – P. 1455-1464.
65. Fiore, M. Fighting in the aged male mouse increases the expression of TrkA and TrkB in the subventricular zone and in the hippocampus / M. Fiore, T. Amendola, V. Triaca, E. Alleva, L. Aloe // *Behav Brain Res.* – 2005. – Vol. 157. – №2. – P. 351-362.
66. Gammie, S.C. Elevated stress sensitivity in corticotropin-releasing factor receptor 2 deficient mice decreases maternal, but not intermale aggression / S.C. Gammie, N.S. Hasen, S.A. Stevenson, T.L. Bale, K.L. D'Anna // *Behav Brain Res.* – 2005. – Vol. 160. – №1. – P. 169-177.
67. Gammie, S.C. Intermale aggression in corticotropin-releasing factor receptor 1 deficient mice / S.C. Gammie, S.A. Stevenson // *Behav Brain Res.* – 2006. – Vol. 171. – №1. – P. 63-69.

68. Garea-Rodríguez, E. Comparative Analysis of the Effects of Neurotrophic Factors CDNF and GDNF in a Nonhuman Primate Model of Parkinson's Disease / E. Garea-Rodríguez, A. Eesmaa, P. Lindholm, C. Schlumbohm, J. König, B. Meller, K. Krieglstein, G. Helms, M. Saarma, E. Fuchs // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11. – №2. – e0149776.
69. Glembotski, C.C. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor protects the heart from ischemic damage and is selectively secreted upon sarco/endoplasmic reticulum calcium depletion / C.C. Glembotski, D.J. Thuerauf, C. Huang, J.A. Vekich, R.A. Gottlieb, S. Doroudgar // *J Biol Chem*. – 2012. – Vol. 287. – №31. – P. 25893-25904.
70. Godar, S.C. The role of monoamine oxidase A in aggression: Current translational developments and future challenges / S.C. Godar, P.J. Fite, K.M. McFarlin, M. Bortolato // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. – 2016. – Vol. 69. – P. 90-100.
71. Gogos, J.A. Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior / J.A. Gogos, Morgan M, Luine V, Santha M, Ogawa S, Pfaff D, Karayiorgou M. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1998. – Vol. 95. – № 17. – P. 9991-9996.
72. Goodson, J.L. Nonapeptides and the evolutionary patterning of sociality / J.L. Goodson // *Prog Brain Res*. – 2008. – Vol. 170. – P. 3-15.
73. Gu, S. Neuromodulator and Emotion Biomarker for Stress Induced Mental Disorders / S. Gu, W. Wang, F. Wang, J.H. Huang // *Neural Plast*. – 2016. – Vol. 2016. – doi: 10.1155/2016/2609128.
74. Guan, X. Lack of association between brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and aggressive behavior in schizophrenia / X. Guan, Z.Q. Dong, Y.Y. Tian, L.N. Wu, Y. Gu, Z.Q. Hu, X. Zhang // *Psychiatry Res*. – 2014. – Vol. 215. – №1. – P. 244-245.
75. Guo, H. Apomorphine induces trophic factors that support fetal rat mesencephalic dopaminergic neurons in cultures / H. Guo, Z. Tang, Y. Yu, L. Xu, G. Jin, J. Zhou // *Eur J Neurosci*. – 2002. – Vol. 16. – №10. – P. 1861-1870.

76. Harmon, A.C. Oxytocin inhibits aggression in female Syrian hamsters / A.C. Harmon, K.L. Huhman, T.O. Moore, H.E. Albers // *J Neuroendocrinol.* – 2002. – Vol. 14. – №12. – P. 963-969.
77. He, Y.Y. Role of BDNF in central motor structures and motor diseases / Y.Y. He, X.Y. Zhang, W.H. Yung, J.N. Zhu, J.J. Wang // *Mol Neurobiol.* – 2013. – Vol. 48. – №3. – P. 783-793.
78. Hellman, M. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) has a unique mechanism to rescue apoptotic neurons / M. Hellman, U. Arumäe, L.Y. Yu, P. Lindholm, J. Peränen, M. Saarma, P. Permi // *J Biol Chem.* – 2011. – Vol. 286. – №4. – P. 2675-2680.
79. Henderson, M.J. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) secretion and cell surface binding are modulated by KDEL receptors / M.J. Henderson, C.T. Richie, M. Airavaara, Y. Wang, B.K. Harvey // *J Biol Chem.* – 2013. – Vol. 288. – №6. – P. 4209-4225.
80. Henkel, A.W. Antagonistic interactions between dexamethasone and fluoxetine modulate morphodynamics and expression of cytokines in astrocytes / A.W. Henkel, H. Alali, A. Devassy, M.M. Alawadi, Z.B. Redzic // *Neuroscience.* – 2014. – Vol. 280. – P. 318-327.
81. Hensler, J.G. Ethanol consumption and serotonin-1A (5-HT_{1A}) receptor function in heterozygous BDNF (+/-) mice / J.G. Hensler, E.E. Ladenheim, W.E. Lyons // *J Neurochem.* – 2003. – Vol. 85. – №5. – P. 1139-1147.
82. Herzog, H. Neuropeptide Y and energy homeostasis: insights from Y receptor knockout models / H. Herzog // *Eur J Pharmacol.* – 2003. – Vol. 480. – P. 21-29.
83. Hidalgo-Figueroa, M. GDNF is predominantly expressed in the PV+ neostriatal interneuronal ensemble in normal mouse and after injury of the nigrostriatal pathway / M. Hidalgo-Figueroa, S. Bonilla, F. Gutiérrez, A. Pascual, J. López-Barneo // *J Neurosci.* – 2012. – Vol. 32. – №. 3. – P. 864-872.
84. 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. – №1-2. – P. 167-170.
85. Hoffmann, H.J. Genetic analysis of isolation-induced aggression. II. Postnatal environmental influences in AB mice / H.J. Hoffmann, R. Schneider, W.E. Crusio // *Behav Genet.* – 1993. – Vol. 23. – №4. – P. 391-394.
86. Holmes, A. Reduced aggression in mice lacking the serotonin transporter / A. Holmes, D.L. Murphy, J.N. Crawley // *Psychopharmacology.* – 2002. – Vol. 161. – P. 160-167.
87. Homberg, J.R. The serotonin-BDNF duo: developmental implications for the vulnerability to psychopathology / J.R. Homberg, R. Molteni, F. Calabrese, M.A. Riva // *Neurosci Biobehav Rev.* – 2014. – Vol. 43. – P. 35-47.
88. Hoyng, S.A. Nerve surgery and gene therapy: a neurobiological and clinical perspective / S.A. Hoyng, M.R. Tannemaat, F. De Winter, J. Verhaagen, M.J. Malessy // *J Hand Surg Eur Vol.* – 2011. – Vol. 36. – №9. – P. 735-746.
89. Ibáñez, C.F. Biology of GDNF and its receptors - Relevance for disorders of the central nervous system / C.F. Ibáñez, J.O. Andressoo // *Neurobiol Dis.* – 2016. – doi: 10.1016/j.nbd.2016.01.021.
90. Ibarguen-Vargas, Y. Deficit in BDNF does not increase vulnerability to stress but dampens antidepressant-like effects in the unpredictable chronic mild stress / Y. Ibarguen-Vargas, A. Surget, P. Vourc'h, S. Leman, C.R. Andres, A.M. Gardier, C. Belzung // *Behav Brain Res.* – 2009. – Vol. 202. – №2. – P. 245-251.
91. Idova, G. Immune reactivity in rats selected for the enhancement or elimination of aggressiveness towards humans / G. Idova, E. Alperina, I. Plyusnina, M. Gevorgyan, E. Zhukova, M. Konoshenko, R. Kozhemyakina, W. Shui-Wu // *Neurosci Lett.* – 2015. – Vol. 609. – P. 103-108.
92. Igarashi, Y. Expression of receptors for glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) and neurturin in the inner blood-retinal barrier of rats / Y. Igarashi, H. Chiba, H. Utsumi, H. Miyajima, T. Ishizaki, T. Gotoh, K. Kuwahara, H. Tobioka, M. Satoh, M. Mori, N. Sawada // *Cell Struct Funct.* – 2000. – Vol. 25. – №4. – P. 237-241.

93. Ito, K. Retrograde transport of neurotrophic factor signaling: implications in neuronal development and pathogenesis / K. Ito, H. Enomoto // *J Biochem.* – 2016. – Vol. 160. – №2. – P. 77-85.
94. Ito, W. BDNF-restricted knockout mice as an animal model for aggression / W. Ito, M. Chehab, S. Thakur, J. Li, A. Morozov // *Genes Brain Behav.* – 2011. – Vol. 10. – №3. – P. 365-374.
95. Izquierdo, I. Fear Memory / I. Izquierdo, C.R. Furini, J.C. Myskiw // *Physiol Rev.* – 2016. – Vol. 96. – №2. – P. 695-750.
96. Janssen, P.A. Effects of various drugs on isolation-induced fighting behavior of male mice / P.A. Janssen, A.H. Jageneau, C.J. Niemegeers // *J Pharmacol Exp Ther.* – 1960. – Vol. 129. – P. 471-475.
97. Jiang, X. BHLHB2 controls Bdnf promoter 4 activity and neuronal excitability / X. Jiang, F. Tian, Y. Du, N.G. Copeland, N.A. Jenkins, L. Tessarollo, X. Wu, H. Pan, X.Z. Hu, K. Xu, H. Kenney, S.E. Egan, H. Turley, A.L. Harris, A.M. Marini, R.H. Lipsky // *J Neurosci.* – 2008. – Vol. 28. – №5. – P. 1118-1130.
98. Karl, T. Y1 receptors regulate aggressive behavior by modulating serotonin pathways / T. Karl, S. Lin, C. Schwarzer, A. Sainsbury, M. Couzens, W. Wittmann, D. Boey, S. von Horsten, H. Herzog // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2004. – Vol. 101. – P. 12742-12747.
99. Karpova, N.N. Role of BDNF epigenetics in activity-dependent neuronal plasticity / N.N. Karpova // *Neuropharmacology.* – 2014. – Vol. 76. – Part C. – P. 709-718.
100. Katz, D.M. Brain-derived neurotrophic factor and Rett syndrome / Katz, D.M. // *Handb Exp Pharmacol.* – 2014. – Vol. 220. – P. 481-495.
101. Kempainen, S. Cerebral dopamine neurotrophic factor improves long-term memory in APP/PS1 transgenic mice modeling Alzheimer's disease as well as in wild-type mice / S. Kempainen, P. Lindholm, E. Galli, H.M. Lahtinen, H. Koivisto, E. Hämäläinen, M. Saarma, H. Tanila // *Behav Brain Res.* – 2015. – Vol. 291. – P. 1-11.
102. Kenchappa, R.S. p75 neurotrophin receptor-mediated apoptosis in sympathetic neurons involves a biphasic activation of JNK and up-regulation

- of tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme/ADAM17 / R.S. Kenchappa, C. Tep, Z. Korade, S. Urrea, F.C. Bronfman, S.O. Yoon, B.D. Carter // *J Biol Chem.* – 2010. – Vol. 285. – №26. – P. 20358-20368.
103. Khan, N. Neurotrophins and Neuropathic Pain: Role in Pathobiology / N. Khan, M.T. Smith // *Molecules.* – 2015. – Vol. 20. – №6. – P. 10657-10688.
104. Kiryanova, V. Increased aggression, improved spatial memory, and reduced anxiety-like behaviour in adult male mice exposed to fluoxetine early in life / V. Kiryanova, R.H. Dyck // *Dev Neurosci.* – 2014. – Vol. 36. – №5. – P. 396-408.
105. Klein, A.B. Changes in 5-HT_{2A}-mediated behavior and 5-HT_{2A}- and 5-HT_{1A} receptor binding and expression in conditional brain-derived neurotrophic factor knock-out mice / A.B. Klein, M.A. Santini, S. Aznar, G.M. Knudsen, M. Rios // *Neuroscience.* – 2010. – Vol. 169. – №3. – P. 1007-1016.
106. Kondaurova, E.M. 5-HT_{1A} receptor gene silencers Freud-1 and Freud-2 are differently expressed in the brain of rats with genetically determined high level of fear-induced aggression or its absence / E.M. Kondaurova, T.V. Ilchibaeva, A.S. Tsybko, R.V. Kozhemyakina, N.K. Popova, V.S. Naumenko // *Behav Brain Res.* – 2016. – Vol. 310. – P. 20-25.
107. Konoshenko, M.Y. Behavioral effects of bidirectional selection for behavior towards human in virgin and lactate Norway rats / M.Y. Konoshenko, I.Z. Plyusnina // *Behav Processes.* – 2012. – Vol. 90. – №2. – P. 180-188.
108. Korte, S.M. Enhanced 5-HT_{1A} receptor expression in forebrain regions of aggressive house mice / S.M. Korte, O.C. Meijer, E.R. de Kloet, B. Buwalda, J. Keijser, F. Sluyter, G. van Oortmerssen, B. Bohus // *Brain Res.* – 1996. – Vol. 736. – №1-2. – P. 338-343.
109. Kretschmer, T. The Association Between Peer and own Aggression is Moderated by the BDNF Val-met Polymorphism / T. Kretschmer, F. Vitaro, E.D. Barker // *J Res Adolesc.* – 2014. – Vol. 24. – №1. – P. 177-185.
110. Kršiak, M. Drug effects on attack defense and escape in mice / M. Kršiak, A. Sulcová, Z. Tomasíková, N. Dlohozková, E. Kosar, K. Masek // *Pharmacol Biochem Behav.* – 1981. – Vol. 14. – Suppl 1. – P. 47-52.

111. Kudryavtseva, N.N. Snca and Bdnf gene expression in the VTA and raphe nuclei of midbrain in chronically victorious and defeated male mice / N.N. Kudryavtseva, N.P. Bondar, U.A. Boyarskikh, M.L. Filipenko // PLoS One. – 2010. – Vol. 5. – №11. – e14089.
112. Kulikov, A.V. A pharmacological evidence of positive association between mouse intermale aggression and brain serotonin metabolism / A.V. Kulikov, D.V. Osipova, V.S. Naumenko, E. Terenina, P. Mormède, N.K. Popova // Behav Brain Res. – 2012. – Vol. 233. – №1. – P. 113-119.
113. Kulikov, A.V. Quantitative RT-PCR assay of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} serotonin receptor mRNAs using genomic DNA as an external standard / A.V. Kulikov, V.S. Naumenko, I.P. Voronova, M.A. Tikhonova, N.K. Popova // J. Neurosci. Meth. – 2005. – Vol. 141. – №1. – P. 92-101.
114. Lang, U.E. Higher BDNF concentrations in the hippocampus and cortex of an aggressive mouse strain / U.E. Lang, L. Günther, K. Scheuch, J. Klein, S. Eckhart, R. Hellweg, H. Danker-Hopfe, J. Oehler // Behav Brain Res. – 2009. – Vol. 197. – №1. – P. 246-249.
115. 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. – №1. – P. 92-102.
116. Latge, C. The Solution Structure and Dynamics of Full-length Human Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor and Its Neuroprotective Role against α -Synuclein Oligomers / C. Latge, K.M. Cabral, G.A. de Oliveira, D.P. Raymundo, J.A. Freitas, L. Johanson, L.F. Romão, F.L. Palhano, T. Herrmann, M.S. Almeida, D. Foguel // J Biol Chem. – 2015. – Vol. 290. – №33. – P. 20527-20540.
117. Lau, A.G. Distinct 3'UTRs differentially regulate activity-dependent translation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) / A.G. Lau, H.A. Irier, J. Gu, D. Tian, L. Ku, G. Liu, M. Xia, B. Fritsch, J.Q. Zheng, R. Dingledine, B. Xu, B. Lu, Y. Feng // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2010. – Vol. 107. – №36. – P. 15945-15950.

118. Ledda, F. GDNF and GFR α 1 promote formation of neuronal synapses by ligand-induced cell adhesion / F. Ledda, G. Paratcha, T. Sandoval-Guzmán, C.F. Ibáñez // *Nat Neurosci.* – 2007. – Vol. 10. – №3. – P. 293-300.
119. Leitner, M.L. Analysis of the retrograde transport of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), neurturin, and persephin suggests that in vivo signaling for the GDNF family is GFR α coreceptor-specific / M.L. Leitner, D.C. Molliver, P.A. Osborne, R. Vejsada, J.P. Golden, P.A. Lampe, A.C. Kato, J. Milbrandt, E.M. Jr. Johnson // *J Neurosci.* – 1999. – Vol. 19. – №21. – P. 9322-9331.
120. Li, W. BDNF deregulation in Rett syndrome / W. Li, L. Pozzo-Miller // *Neuropharmacology.* – 2014. – Vol. 76, Pt. C. – P. 737-746.
121. Li, X. Multiple faces of BDNF in cocaine addiction / X. Li, M.E. Wolf // *Behav Brain Res.* – 2015. – Vol. 279. – P. 240-254.
122. Libman-Sokołowska, M. BDNF as a biomarker in the course and treatment of schizophrenia / M. Libman-Sokołowska, E. Drozdowicz, T. Nasierowski // *Psychiatr Pol.* – 2015. – Vol. 49. – № 6. – P. 1149-1158.
123. 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. – № 5111. – P. 1130-1132.
124. Lin, P.Y. Decreased glial cell line-derived neurotrophic factor levels in patients with depression: a meta-analytic study / P.Y. Lin, P.T. Tseng // *J Psychiatr Res.* – 2015. – Vol.63. – P. 20-27.
125. Lindahl, M. Unconventional neurotrophic factors CDNF and MANF: Structure, physiological functions and therapeutic potential / M. Lindahl, M. Saarma, P. Lindholm // *Neurobiol Dis.* – 2016. – doi: 10.1016/j.nbd.2016.07.009.
126. Lindholm, P. MANF is widely expressed in mammalian tissues and differently regulated after ischemic and epileptic insults in rodent brain / P. Lindholm, J. Peränen, J.O. Andressoo, N. Kalkkinen, Z. Kokaia, O. Lindvall, T. Timmusk, M. Saarma // *Mol Cell Neurosci.* – 2008. – Vol. 39. – № 3. – P. 356-371.

127. Lindholm, P. Novel CDNF/MANF family of neurotrophic factors / P. Lindholm, M. Saarma // *Dev Neurobiol.* – 2010. – Vol. 70. – № 5. – P. 360-371.
128. Lindholm, P. Novel neurotrophic factor CDNF protects and rescues midbrain dopamine neurons in vivo / P. Lindholm, M.H. Voutilainen, J. Laurén, J. Peränen, V.M. Leppänen, J.O. Andressoo, M. Lindahl, S. Janhunen, N. Kalkkinen, T. Timmusk, R.K. Tuominen, M. Saarma // *Nature.* – 2007. – Vol. 448. – № 7149. – P. 73-77.
129. 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. – №№ 2-3. – P. 367-372.
130. Lu, B. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction / B. Lu, G. Nagappan, Y. Lu // *Handb Exp Pharmacol.* – 2014. – Vol. 220. – P. 223-250.
131. Lu, B. The yin and yang of neurotrophin action / B. Lu B, Pang PT, Woo NH. // *Nat Rev Neurosci.* – 2005. – Vol. 6. – № 8. – P. 603-614.
132. Lumley, L.A. Reduced isolation-induced aggressiveness in mice following NAALADase inhibition / L.A. Lumley, C.L. Robison, B.S. Slusher, K. Wozniak, M. Dawood, J.L. Meyerhoff // *Psychopharmacology.(Berl).* – 2004. – Vol. 171. – P. 375-381.
133. Lyons, W.E. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities / W.E. Lyons, L.A. Mamounas, G.A. Ricaurte, V. Coppola, S.W. Reid, S.H. Bora, C. Wihler, V.E. Koliatsos, L. Tessarollo // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1999. – Vol. 96. – № 26. – P. 15239-15244.
134. Maheu, M. MicroRNA regulation of central glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) signalling in depression / M. Maheu, J.P. Lopez, L. Crapper, M.A. Davoli, G. Turecki, N. Mechawar. // *Transl Psychiatry.* – 2015. – Vol. 5. – doi: 10.1038/tp.2015.11.

135. Martínez-Levy, G.A. Genetic and epigenetic regulation of the brain-derived neurotrophic factor in the central nervous system / G.A. Martínez-Levy, C.S. Cruz-Fuentes // *Yale J Biol Med.* – 2014. – Vol. 87. – № 2. – P. 173-186.
136. Maxson A.C. Aggression: concepts and methods relevant to genetic analyses in mice and humans. In: *Neurobehavioral genetics. Methods and applications* (Jones B.C., Mormede P. eds.) // CRC Press LLC, N.W., Boca Raton, Florida. – 2000. – Vol. 396. – P. 293.
137. Maxson S.C., Canastar A. Aggression: Concepts and Methods Relevant to Genetic Analysis in Mice and Humans. In: *Neurobehavioral Genetics: Methods and Applications*, 2nd ed (Jones B.C., Mormede P. eds.). Taylor & Francis, Boca Raton. – 2007. – P. 291-306.
138. Maynard, K.R. Functional Role of BDNF Production from Unique Promoters in Aggression and Serotonin Signaling / K.R. Maynard, J.L. Hill, N.E. Calcaterra, M.E. Palko, A. Kardian, D. Paredes, M. Sukumar, B.D. Adler, D.V. Jimenez, R.J. Schloesser, L. Tessarollo, B. Lu, K. Martinowich // *Neuropsychopharmacology.* – 2016. – Vol. 41. – № 8. – P. 1943-1955.
139. McMillen, B.A. Effects of classical and atypical antipsychotic drugs on isolation-induced aggression in male mice / B.A. McMillen, E.A. DaVanzo, A.H. Song, S.M. Scott, M.E. Rodriguez // *Eur J Pharmacol.* – 1989. – Vol. 160. – № 1 – P. 149-53.
140. McNaught, K.S. Dysfunction of rat forebrain astrocytes in culture alters cytokine and neurotrophic factor release / K.S. McNaught, P. Jenner // *Neurosci Lett.* – 2000. – Vol. 285. – № 1. – P. 61-65.
141. Miczek K.A. Neurochemistry and Molecular Neurobiology of Aggressive Behavior / K.A. Miczek, S.P. Faccidomo, E.W. Fish, J.F. DeBold // *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology* (A. Lijtha, J.D. Blaustein eds). – Springer, NY., USA. – 2007. – P. 285-336.
142. Miczek, K.A. D-Amphetamine “cue” generalizes to social defeat stress: sensitization and role of accumbens dopamine / K.A. Miczek, N.H. Mutschler, A.M.M. Van Erp, A.D. Blank, S.C. McInerney // *Psychopharmacology.* – 1999. – Vol. 147. – P. 190-199.

143. Miczek, K.A. Neurosteroids, GABA_A receptors, and escalated aggressive behavior / K.A. Miczek, E.W. Fish, J.F. DeBold // *Horm Behav.* – 2003. – Vol.44. – P. 242–257.
144. Miczek, K.A. Psychomotor stimulant effects of d-amphetamine, MDMA and PCP: aggressive and schedule-controlled behavior in mice / K.A. Miczek, M. Haney // *Psychopharmacology (Berl)*. – 1994. – 115. – № 3. – P. 358-365.
145. Moisan, M.-P. A major quantitative trait locus influences hyperactivity in the WKHA rat / M.-P. Moisan, H. Courvoisier, M-T. Bihoreau, D. Gauguier, E.D. Hendley, M. Lathrop, M.R. James, P. Mormede // *Nat. Genet.* – 1996. – Vol. 14. – P. 471-473.
146. Mosienko, V. Exaggerated aggression and decreased anxiety in mice deficient in brain serotonin / V. Mosienko, B. Bert, D. Beis, S. Matthes, H. Fink, M. Bader, N. Alenina // *Transl Psychiatry.* – 2012. – Vol. 2. – doi: 10.1038/tp.2012.44.
147. Moyer, K.B. Kinds of aggression and their physiological basis / K.B. Moyer // *Commun Behav Biol.* – 1968. – Vol. 2. – P. 65-87.
148. Nadella, R. Transient transfection of human CDNF gene reduces the 6-hydroxydopamine-induced neuroinflammation in the rat substantia nigra / R. Nadella, M.H. Voutilainen, M. Saarna, J.A. Gonzalez-Barrios, B.A. Leon-Chavez, J.M. Jiménez, S.H. Jiménez, L. Escobedo, D. Martinez-Fong // *J Neuroinflammation.* – 2014. – Vol. 11. – doi: 10.1186/s12974-014-0209-0.
149. Nagata, T. Plasma BDNF levels are correlated with aggressiveness in patients with amnesic mild cognitive impairment or Alzheimer disease / T. Nagata, N. Kobayashi, S. Shinagawa, H. Yamada, K. Kondo, K. Nakayama // *J Neural Transm (Vienna)*. – 2014. – Vol. 121. – № 4. – P. 433-441.
150. Nakashima, S. Suppression of GDNF production by MPSS treatment following spinal cord injury in the rat / S. Nakashima, Y. Matsuyama, Y. Yu, K. Kiuchi, N. Ishiguro // *Neuroreport.* – 2004. – Vol. 15. – № 15. – P. 2337-2340.
151. Nathanson, N.M. Regulation of neurokinin receptor signaling and trafficking / N.M. Nathanson // *Neurochem Int.* – 2012. – Vol. 61. – № 6. – P. 874-878.

152. Naumenko, E.V. Behavior, adrenocortical activity, and brain monoamines in Norway rats selected for reduced aggressiveness towards man / E.V. Naumenko, N.K. Popova, E.M. Nikulina, N.N. Dygalo, G.T. Shishkina, P.M. Borodin, A.L. Markel // *Pharmacol Biochem Behav.* – 1989. – Vol. 33. – № 1. – P. 85-91.
153. 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.
154. Naumenko, V.S. Effect of glial cell line-derived neurotrophic factor on behavior and key members of the brain serotonin system in mouse strains genetically predisposed to behavioral disorders / V.S. Naumenko, D.V. Bazovkina, A.A. Semenova, A.S. Tsybko, T.V. Il'chibaeva, E.M. Kondaurova, N.K. Popova // *J Neurosci Res.* – 2013. – Vol. 91. – № 12. – P. 1628-1638.
155. Naumenko, V.S. On the role of 5-HT(1A) receptor gene in behavioral effect of brain-derived neurotrophic factor / V.S. Naumenko, E.M. Kondaurova, D.V. Bazovkina, A.S. Tsybko, T.V. Il'chibaeva, N.K. Popova // *J Neurosci Res.* 2014. – Vol. 92. – № 8. – P. 1035-1043
156. Naumenko, V.S. Serotonin 5-HT1A receptor in infancy-onset aggression: comparison with genetically defined aggression in adult rats / V.S. Naumenko, R.V. Kozhemyakina, I.F. Plyusnina, A.V. Kulikov, N.K. Popova // *Behav Brain Res.* – 2013. – Vol. 243. – P. 97-101.
157. Naumenko, V.S. Utilization of a two-standard system in real-time PCR for quantification of gene expression in the brain / V.S. Naumenko, D.V. Osipova, E.V. Kostina, A.V. Kulikov // *J. Neurosci. Meth.* – 2008. – Vol.170. – P.197-203.
158. Navarro, J.F. JNJ16259685, a selective mGlu1 antagonist, suppresses isolation-induced aggression in male mice / J.F. Navarro, V. De Castro, M. Martín-López // *Eur J Pharmacol.* – 2008. – Vol. 586. – P. 217–220.

159. Neumann, I.D. Aggression and anxiety: social context and neurobiological links / I.D. Neumann, A.H. Veenema, D.I. Beiderbeck // *Front Behav Neurosci.* – 2010. – Vol. 4:12. – doi: 10.3389/fnbeh.2010.00012.
160. Newman, E.L. NMDA receptor antagonism: escalation of aggressive behavior in alcohol-drinking mice / E.L. Newman, A. Chu, B. Bahamón, A. Takahashi, J.F. DeBold, K.A. Miczek // *Psychopharmacology.* – 2012. – Vol. 224. – P. 167–177.
161. Nguyen, K.Q. Impaired TrkB Signaling Underlies Reduced BDNF-Mediated Trophic Support of Striatal Neurons in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease / K.Q. Nguyen, V.V. Rymar, A.F. Sadikot // *Front Cell Neurosci.* – 2016. – Vol.10:37. – doi: 10.3389/fncel.2016.00037.
162. Nikulina, E.M. Neural control of predatory aggression in wild and domesticated animals / E.M. Nikulina // *Neurosci Biobehav Rev.* – 1991. – Vol. 15. – № 4. – P. 545-547.
163. Nikulina, E.M. Selection for Reduced Aggressiveness Towards Man and Dopaminergic Activity in Norway Rats / E.M. Nikulina, D.F. Avgustinovich, N.K. Popova // *Aggress. Behav.* – 1992. – Vol. 18. – P. 65-72.
164. Nishikiori, N. Glial cell-derived cytokines attenuate the breakdown of vascular integrity in diabetic retinopathy / N. Nishikiori, M. Osanai, H. Chiba, T. Kojima, Y. Mitamura, H. Ohguro, N. Sawada // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56. – № 5. – P. 1333-1340.
165. Noori-Zadeh, A. Non-viral human proGDNF gene delivery to rat bone marrow stromal cells under ex vivo conditions / A. Noori-Zadeh, S.A. Mesbah-Namin, T. Tiraihi, M. Rajabibazl, T. Taheri // *J Neurol Sci.* – 2014. – Vol. 339. – №№ 1-2. – P. 81-86.
166. Ohta, K. Cabergoline stimulates synthesis and secretion of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor by mouse astrocytes in primary culture / K. Ohta, A. Fujinami, S. Kuno, A. Sakakimoto, H. Matsui, Y. Kawahara, M. Ohta // *Pharmacology.* – 2004. – Vol. 71. – № 3. – P. 162-168.
167. Ohta, K. Effects of dopamine agonists bromocriptine, pergolide, cabergoline, and SKF-38393 on GDNF, NGF, and BDNF synthesis in cultured

- mouse astrocytes / K. Ohta, S. Kuno, I. Mizuta, A. Fujinami, H. Matsui, M. Ohta // *Life Sci.* – 2003. – Vol. 73. – № 5. – P. 617-626.
168. Olivier, B. Serotonin and aggression / B. Olivier // *Ann N Y Acad Sci.* – 2004. – Vol. 1036. – P. 382-392.
169. Osipova, D.V. C1473G polymorphism in mouse *tph2* gene is linked to tryptophan hydroxylase-2 activity in the brain, intermale aggression, and depressive-like behavior in the forced swim test / D.V. Osipova, A.V. Kulikov, N.K. Popova // *J Neurosci Res.* – 2009. – Vol. 87. – № 5. – P. 1168-1174.
170. Ou, L.C. Transcriptional regulation of brain-derived neurotrophic factor in the amygdala during consolidation of fear memory / L.C. Ou, P.W. Gean // *Mol Pharmacol.* – 2007. – Vol. 72. – № 2. – P. 350-358.
171. Paillard, T. Protective Effects of Physical Exercise in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: A Narrative Review / T. Paillard, Y. Rolland, P. de Souto Barreto // *J Clin Neurol.* – 2015. – Vol. 11. – № 3. – P. 212-219.
172. Park, H. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function / H. Park, M.M. Poo // *Nat Rev Neurosci.* – 2013. – 14. – № 1. – 7-23.
173. Parkash, V. The structure of the conserved neurotrophic factors MANF and CDFN explains why they are bifunctional / V. Parkash, P. Lindholm, J. Peränen, N. Kalkkinen, E. Oksanen, M. Saarma, V.M. Leppänen, A. Goldman // *Protein Eng Des Sel.* – 2009. – Vol. 22. – № 4. – 233-241.
174. Pascual, A. GDNF and protection of adult central catecholaminergic neurons / A. Pascual, M. Hidalgo-Figueroa, R. Gómez-Díaz, J. López-Barneo // *J Mol Endocrinol.* – 2011. – Vol. 46. – № 3. – 83-92.
175. Perovic, M. BDNF transcripts, proBDNF and proNGF, in the cortex and hippocampus throughout the life span of the rat / M. Perovic, V. Tesic, A. Mladenovic Djordjevic, K. Smiljanic, N. Loncarevic-Vasiljkovic, S. Ruzdijic S, Kanazir // *Age (Dordr).* – 2013. – Vol. 35. – № 6. – 2057-2070.
176. Petrova, P. MANF: a new mesencephalic, astrocyte-derived neurotrophic factor with selectivity for dopaminergic neurons / P. Petrova, A. Raibekas, J. Pevsner, N. Vigo, M. Anafi, M.K. Moore, A.E. Peaire, V. Shridhar, D.I. Smith, J. Kelly, Y. Durocher, J.W. Commissiong // *J Mol Neurosci.* – 2003. – Vol. 20. – № 2. – 173-188.

177. Pezet, S. Neurotrophins and pain / S. Pezet // *Biol Aujourdhui*. – 2014. – Vol. 208. – № 1. – 21-29.
178. Pietropaolo, S. Long-term effects of the periadolescent environment on exploratory activity and aggressive behaviour in mice: social versus physical enrichment / S. Pietropaolo, I. Branchi, F. Cirulli, F. Chiarotti, L. Aloe, E. Alleva // *Physiol Behav*. – 2004. – Vol. 81. – № 3. – 443-453.
179. Piñeyro, G. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action / G. Piñeyro, P. Blier // *Pharmacol Rev*. – 1999. – Vol. 51. – № 3. – P. 533-591.
180. Pitts, E.G. Prefrontal cortical BDNF: A regulatory key in cocaine- and food-reinforced behaviors / E.G. Pitts, J.R. Taylor, S.L. Gourley. // *Neurobiol Dis*. – 2016. – Vol. 91. – 326-335.
181. Plyusnina, I. Behavioral and adrenocortical responses to open-field test in rats selected for reduced aggressiveness toward humans / I. Plyusnina, I. Oskina // *Physiol Behav*. – 1997. – Vol. 61. – № 3. – 381-385.
182. Plyusnina, I.Z. Cross-fostering effects on weight, exploratory activity, acoustic startle reflex and corticosterone stress response in Norway gray rats selected for elimination and for enhancement of aggressiveness towards human / I.Z. Plyusnina, I.N. Oskina, M.A. Tibeikina, N.K. Popova // *Behav Genet*. – 2009. – Vol. 39. – № 2. – 202-212.
183. Popova NK, Avgustinovich DF, Kolpakov VG, Plyusnina IZ. Specific [3H]8-OH-DPAT binding in brain regions of rats genetically predisposed to various defense behavior strategies / N.K. Popova, D.F. Avgustinovich, V.G. Kolpakov, I.Z. Plyusnina // *Pharmacol Biochem Behav*. – 1998. – Vol. 59. – № 4. – 793-797.
184. Popova, N.K. From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system / N.K. Popova // *Bioessays*. – 2006. – Vol. 28. – № 5. – P. 495-503.
185. Popova, N.K. Genetic analysis of different kinds of aggressive behavior / N.K. Popova, E.M. Nikulina, A.V. Kulikov. // *Behav. Genet*. – 1993. – Vol. 23. – № 5. – 491-497.
186. Popova, N.K. Reduction in 5-HT1A receptor density, 5-HT1A mRNA expression, and functional correlates for 5-HT1A receptors in genetically

- defined aggressive rats / N.K. Popova, V.S. Naumenko, I.Z. Plyusnina, A.V. Kulikov. // *J Neurosci Res.* – 2005. – Vol. 80. – № 2. – 286-292.
187. Pruunsild, P. Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters / P. Pruunsild, A. Kazantseva, T. Aid, K. Palm, T. Timmusk // *Genomics.* – 2007. – Vol. 90. – № 3. – 397-406.
188. Puglisi-Allegra, S. Involvement of the GABAergic system on shock-induced aggressive behavior in two strains of mice / S. Puglisi-Allegra, S. Simler, E. Kempf, P. Mandel // *Pharmacol Biochem Behav.* – 1981. – Vol. 14. – Suppl. 1. – P. 13-18.
189. Puglisi-Allegra, S. Involvement of the GABAergic system on shock-induced aggressive behavior in two strains of mice / S. Puglisi-Allegra, S. Simler, E. Kempf, P. Mandel // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 1981. – Vol. 14 – Supl. 1. – P. 13-18.
190. Ragnauth, A.K. Female oxytocin gene-knockout mice, in a semi-natural environment, display exaggerated aggressive behavior / A.K. Ragnauth, N. Devidze, V. Moy, K. Finley, A. Goodwillie, L.M. Kow, L.J. Muglia, D.W. Pfaff. // *Genes Brain Behav.* – 2005. – Vol. 4. – № 4. – 229-239.
191. Ren, X. AAV2-mediated striatum delivery of human CDNF prevents the deterioration of midbrain dopamine neurons in a 6-hydroxydopamine induced parkinsonian rat model / X. Ren, T. Zhang, X. Gong, G. Hu, W. Ding, X. Wang. // *Exp Neurol.* – 2013. – Vol. 248. – 148-156.
192. Rios, M. Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity / M. Rios, G. Fan, C. Fekete, J. Kelly, B. Bates, R. Kuehn, R.M. Lechan, R. Jaenisch // *Mol Endocrinol.* – 2001. – Vol. 15. – № 10. – 1748-1757.
193. Rios, M. Severe deficits in 5-HT_{2A} -mediated neurotransmission in BDNF conditional mutant mice / M. Rios, E.K. Lambe, R. Liu, S. Teillon, J. Liu, S. Akbarian, S. Roffler-Tarlov, R. Jaenisch, G.K. Aghajanian // *J Neurobiol.* – 2006. – Vol. 66. – № 4. – 408-420.
194. Rocha, S.M. Astrocyte-derived GDNF is a potent inhibitor of microglial activation / S.M. Rocha, A.C. Cristovão, F.L. Campos, C.P. Fonseca, G. Baltazar // *Neurobiol Dis.* – 2012. – Vol. 47. – № 3. – 407-415.

195. Rodríguez-Arias, M. Effects of risperidone and SCH 23390 on isolation-induced aggression in male mice / M. Rodríguez-Arias, J. Miñarro, M.A. Aguilar, J. Pinazo, V.M. Simón // *Eur Neuropsychopharmacol.* – 1998. – Vol. 8. - № 2. – P.95-103.
196. Rodriguiz, R.M. Aberrant responses in social interaction of dopamine transporter knockout mice / R.M. Rodriguiz, R. Chu, M.G. Caron, W.C. Wetsel // *Behav Brain Res.* – 2004. – Vol. 148. – 185-198.
197. Rolinski, Z. Pharmacological studies on isolation-induced aggressiveness in mice in relation to biogenic amines / Z. Rolinski // *Pol J Pharmacol Pharm.* – 1975. – Vol. 27. – P. 37-44.
198. Rosell, D.R. The neurobiology of aggression and violence / D.R. Rosell, L.J. Siever // *CNS Spectr.* – 2015. – Vol. 20. – № 3. – 254-279.
199. Rudissaar, R. Involvement of GABAergic neurotransmission in the neurobiology of the apomorphine-induced aggressive behavior paradigm, a model of psychotic behavior in rats / R. Rudissaar, K. Pruus, T. Skrebuhhova-Malmros, L. Allikmets, V. Matto // *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* – 2000. – Vol. 22. – 637-640.
200. Rudnick, G. The SLC6 transporters: perspectives on structure, functions, regulation, and models for transporter dysfunction / G. Rudnick, R. Krämer, R.D. Blakely, D.L. Murphy, F. Verrey // *Pflugers Arch.* – 2014. – Vol. 466. - № 1. – P. 25-42.
201. Saavedra, A. Driving GDNF expression: the green and the red traffic lights / A. Saavedra, G. Baltazar, E.P. Duarte // *Prog. Neurobiol.* – 2008. – Vol. 86. – № 3. – P. 186-215.
202. Sariola, H. Novel functions and signalling pathways for GDNF / H. Sariola, M. Saarma // *J Cell Sci.* – 2003. – Vol. 116. – Pt. 19. – P. 3855-3862.
203. Saudou, F. Enhanced aggressive behavior in mice lacking 5-HT1B receptor / F. Saudou, D.A. Amara, A. Dierich, M. LeMeur, S. Ramboz, L. Segu, M.C. Buhot, R. Hen // *Science.* – 1994. – Vol. 265. – № 5180. – P. 1875-1878.
204. Schiller, L. Serotonin 1A and 2A receptor densities, neurochemical and behavioural characteristics in two closely related mice strains after long-term isolation / L. Schiller, M. Donix, M. Jähkel, J. Oehler // *Prog*

- Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. – 2006. – Vol. 30. – № 3. – P. 492-503.
205. Scola, G. The role of neurotrophins in bipolar disorder / G. Scola, A.C. Andreazza // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. – 2015. – Vol. 56. – P. 122-128.
206. Scott, A.L. Novel monoamine oxidase A knock out mice with human-like spontaneous mutation / A.L. Scott, M. Bortolato, K. Chen, J.C. Shih // Neuro Report. – 2008. – Vol. 19. – P. 739-743.
207. Shimizu, F. Pericyte-derived glial cell line-derived neurotrophic factor increase the expression of claudin-5 in the blood-brain barrier and the blood-nerve barrier / F. Shimizu, Y. Sano, K. Saito, M.A. Abe, T. Maeda, H. Haruki, T. Kanda // Neurochem Res. – 2012. – Vol. 37. – № 2. – P. 401-409.
208. Sidorova, Y.A. Glial cell line-derived neurotrophic factor family ligands and their therapeutic potential / Y.A. Sidorova, M. Saarma // Mol Biol (Mosk). – 2016. – Vol. 50. – № 4. – P. 589-598.
209. Simler, S. Gamma-amino-butyric acid in brain areas of isolated aggressive or non-aggressive inbred strains of mice / S. Simler, S. Puglisi-Allegra, P. Mandel // Pharmacol Biochem Behav. – 1982. – Vol. 16. – P. 57-61.
210. Sopova, K. Dysregulation of neurotrophic and haematopoietic growth factors in Alzheimer's disease: from pathophysiology to novel treatment strategies / K. Sopova, K. Gatsiou, K. Stellos, C. Laske // Curr Alzheimer Res. – 2014. – Vol. 11. – № 1. – P. 27-39.
211. Spalletta, G. BDNF Val66Met polymorphism is associated with aggressive behavior in schizophrenia / G. Spalletta, D.W. Morris, F. Angelucci, I.A. Rubino, I. Spoletini, P. Bria, G. Martinotti, A. Siracusano, G. Bonaviri, S. Bernardini, C. Caltagirone, P. Bossù, G. Donohoe, M. Gill, A.P. Corvin // Eur Psychiatry. – 2010. – Vol. 25. – № 6. – P. 311-313.
212. Sun, X.L. The proform of glia cell line-derived neurotrophic factor: a potentially biologically active protein / X.L. Sun, B.Y. Chen, L. Duan, Y. Xia, Z.J. Luo, J.J. Wang, Z.R. Rao, L.W. Chen // Mol Neurobiol. – 2014. – Vol. 49. – № 1. – P. 234-250.

213. Szegezdi, E. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis / E. Szegezdi, S.E. Logue, A.M. Gorman, A. Samali // *EMBO Rep.* – 2006. – Vol. 7. – № 9. – P. 880-885.
214. Takahashi, A. Behavioral and pharmacogenetics of aggressive behavior / A. Takahashi, I.M. Quadros, R.M. de Almeida, K.A. Miczek // *Curr Top Behav Neurosci.* – 2012. – Vol. 12. – P. 73-138.
215. Takahashi, A. Behavioral characterization of escalated aggression induced by GABA_B receptor activation in the dorsal raphe nucleus / A. Takahashi, A.N. Schilit, J. Kim, J.F. DeBold, T. Koide, K.A. Miczek // *Psychopharmacology.* – 2012. – Vol. 224. – P. 155–166.
216. Takahashi, A. Neurogenetics of aggressive behavior: studies in rodents / A. Takahashi, K.A. Miczek // *Curr Top Behav Neurosci.* – 2014. – Vol. 17. – P. 3-44.
217. Taylor, S.L. Differential brain-derived neurotrophic factor expression in limbic brain regions following social defeat or territorial aggression / S.L. Taylor, L.M. Stanek, K.J. Ressler, K.L. Huhman // *Behav Neurosci.* – 2011. – Vol. 125. – № 6. – P. 911-920.
218. Tidey, J.W. Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an in vivo microdialysis study / J.W. Tidey, K.A. Miczek // *Brain Res.* – 1996. – Vol. 721. – P. 140-149.
219. 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. – № 1. – P. 244-257.
220. 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. – № 2. – P. 359-372.
221. Unger, T.J. Selective Deletion of *Bdnf* in the Ventromedial and Dorsomedial Hypothalamus of Adult Mice Results in Hyperphagic Behavior

- and Obesity / T.J. Unger, G.A. Calderon, L.C. Bradley, M. Sena-Esteves, M. Rios // *J Neuroscience*. – 2007. – Vol. 27. – № 52. – P. 14265–14274.
222. Van Erp, A.M.M. Aggressive behavior, increased accumbal dopamine, and decreased cortical serotonin in rats / A.M.M. Van Erp, K.A. Miczek // *J Neurosci*. – 2000. – Vol. 20. – P. 9320-9325.
223. Vekovischeva, O.Y. Reduced aggression in AMPA-type glutamate receptor GluR-A subunit-deficient mice / O.Y. Vekovischeva, T. Aitta-aho, O. Echenko, A. Kankaanpaa, T. Seppälä, A. Honkanen, R. Sprengel, E.R. Korpi // *Genes Brain Behav*. – 2004. – Vol. 3. – P. 253-265.
224. Verity, A.N. Differential regulation of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression in human neuroblastoma and glioblastoma cell lines / A.N. Verity, T.L. Wyatt, W. Lee, B. Hajos, P.A. Baecker, R.M. Eglen, R.M. Johnson // *J Neurosci Res*. – 1999. – Vol. 55. – № 2. – P. 187-197.
225. Vishnivetskaya, G.B. Effect of MAO A deficiency on different kinds of aggression and social investigation in mice / G.B. Vishnivetskaya, J.A. Skrinskaya, I. Seif, N.K. Popova // *Aggress Behav*. – 2007. – Vol. 33. – № 1. – P. 1-6.
226. Volavka, J. *Neurobiology of Violence* / J. Volavka // American Psychiatry Press, Washington, D.C. – 1995. – P. 410.
227. Voutilainen, M.H. Chronic infusion of CDNF prevents 6-OHDA-induced deficits in a rat model of Parkinson's disease / M.H. Voutilainen, S. Bäck, J. Peränen, P. Lindholm, P.T. Männistö, M. Saarma, R.K. Tuominen // *Experimental Neurology*. – 2011. – Vol. 228. – P. 99–108
228. Voutilainen, M.H. Therapeutic potential of the endoplasmic reticulum located and secreted CDNF/MANF family of neurotrophic factors in Parkinson's disease / M.H. Voutilainen, U. Arumäe, M. Airavaara, M. Saarma // *FEBS Lett*. – 2015. – Vol. 589. – № 24. – Pt. A. – P. 3739-3748.
229. Walter, P. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation / P. Walter, D. Ron // *Science*. – 2011. – Vol. 334. – № 6059. – P. 1081-1086.

230. Weissmiller, A.M. Current advances in using neurotrophic factors to treat neurodegenerative disorders / A.M. Weissmiller, C. Wu // *Transl Neurodegener.* – 2012. – Vol. 1. – № 1. – doi: 10.1186/2047-9158-1-14.
231. West, A.E., Pruunsild, P., Timmusk, T. Neurotrophins: transcription and translation / A.E. West, P. Pruunsild, T. Timmusk // *Handb Exp Pharmacol.* – 2014. – Vol. 220. – P. 67-100.
232. Winslow, J.T. Infant vocalization, adult aggression, and fear behavior of an oxytocin null mutant mouse / J.T. Winslow, E.F. Hearn, J. Ferguson, L.J. Young, M.M. Matzuk, T.R. Insel. // *Horm Behav.* – 2000. – Vol. 37. – № 2. – P. 145-155.
233. Wook Koo, J. Essential Role of Mesolimbic Brain-Derived Neurotrophic Factor in Chronic Social Stress-Induced Depressive Behaviors / J. Wook Koo, B. Labonté, O. Engmann, E.S. Calipari, B. Juarez, Z. Lorsch, J.J. Walsh, A.K. Friedman, J.T. Yorgason, M.H. Han, E.J. Nestler // *Biol Psychiatry.* – 2015. – doi: 10.1016/j.biopsych.2015.12.009.
234. Young, S.E. Dopamine transporter polymorphism associated with externalizing behavior problems in children / S.E. Young, A. Smolen, R.P. Corley, K.S. Krauter, J.C. DeFries, T.J. Crowley, J.K. Hewitt // *Am J Med Genet.* – 2002 – Vol. 114. № 2. – P. 144-149.
235. Yu, Q. Dopamine and serotonin signaling during two sensitive developmental periods differentially impact adult aggressive and affective behaviors in mice / Q. Yu, C.M. Teixeira, D. Mahadevia, Y. Huang, D. Balsam, J.J. Mann, J.A. Gingrich, M.S. Ansorge // *Mol. Psychiatry.* – 2014. – Vol. 19. – № 6. – P. 688–698.
236. Zhao, H. Transplantation of Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor Transduced BMSCs in Contusion Spinal Cord Injury of Rats: Promotion of Nerve Regeneration by Alleviating Neuroinflammation / H. Zhao, L. Cheng, X. Du, Y. Hou, Y. Liu, Z. Cui, L. Nie // *Mol Neurobiol.* – 2016. – Vol. 53. – P. 187-199.
237. Zhuang, X. Altered emotional states in knockout mice lacking 5-HT1A or 5-HT1B receptors / X. Zhuang, C. Gross, L. Santarelli, V. Compan, A.C.

Trillat, R. Hen // Neuropsychopharmacology. – 1999. – Vol. 21. – Suppl. 2. –
P. 52-60.