

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

На правах рукописи

Куликова Елизавета Александровна

ВЛИЯНИЕ ПСИХОТРОПНОГО ПРЕПАРАТА ТС-2153 НА
ПОВЕДЕНИЕ И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ
СЕРОТОНИНОВОЙ СИСТЕМЫ И НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО
ФАКТОРА МОЗГА МЫШЕЙ, ГЕНЕТИЧЕСКИ
ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К НЕЙРОПАТОЛОГИИ

03.03.01-физиология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
Н.К. Попова

Новосибирск
2014

Список используемых сокращений	4
Введение.....	5
Глава 1. Обзор литературы. Участие серотониновой системы и нейротрофического фактора мозга в механизме депрессии. Экспериментальные модели психопатологии.....	10
1.1. Депрессия	10
1.2. Экспериментальные модели депрессии	11
1.3. Участие серотониновой системы головного мозга в механизмах возникновения депрессии и действии антидепрессантов	17
1.4. Участие нейротрофического фактора мозга BDNF в механизмах возникновения депрессии и действии антидепрессантов	21
1.5. Объединение гипотез	23
1.6. Бензопентатиепины	25
Глава 2. Материалы и методы.....	27
2.1. Экспериментальные животные	27
2.2. Препараты	28
2.3. Экспериментальные серии.....	28
2.4. Поведенческие тесты.....	29
2.5. Магнитно-резонансная томография	31
2.6. Определение уровня экспрессии генов	33
2.7. Статистическая обработка.....	39
Глава 3. Результаты.....	40
3.1. Морфологические особенности мозга мышей, генетически предрасположенных к патологическому поведению.....	40

3.2. Влияние ТС-2153 на поведение	41
3.2.1. Каталепсия.....	41
3.2.2. Депрессивноподобное поведение.....	43
3.2.3. Двигательная активность, исследовательская активность и тревожность.....	43
3.2.4. Сравнение поведенческих эффектов препарата ТС-2153 и классических антидепрессантов, ингибиторов обратного захвата серотонина, флуоксетина и имипрамина.	45
3.3 .Исследование механизма действия ТС-2153.	49
3.3.1. Участие серотониновой системы в механизме действия препарата ТС-2153	49
3.3.2. Влияние ТС-2153 на экспрессию гена нейротрофического фактора мозга BDNF и гена транскрипционного фактора CREB	51
Глава 4. Обсуждение.....	54
Заключение.....	60
Выводы.....	61
Список цитируемой литературы.....	62

Список используемых сокращений

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

5-НТ₁₋₇ – рецепторы серотонина

8-ОН-ДРАТ – 8-гидрокси-N,N-дипропил-2-аминотетралин

ГК – линия крыс (Генетические Каталептики)

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДПК – диэтилпиروкарбонат

МАОА; *Maoa* – моноаминоксидаза А; ген, кодирующий фермент МАОА

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

ОП – тест «открытое поле»

ОТ-ПЦР – обратная транскрипция - полимеразная цепная реакция

ПКЛ – тест «приподнятый крестообразный лабиринт»

ПП – тест «принудительное плавание»

ТВИН-80 – полисорбат 80

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

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

ASC – линия мышей (Antidepressant Sensitive Catalepsy)

BDNF – brain-derived neurotrophic factor –нейротрофический фактор мозга

CRE – последовательность на молекуле ДНК, связывающаяся с белком CREB

CREB – cAMP-responsive element binding protein – цАМФ-зависимый транскрипционный фактор

D2 – рецептор дофамина второго типа

ДМСО – диметилсульфоксид, биполярный апротонный растворитель

FSL – линия крыс (Flinders Sensitive Line)

HL – линия мышей (Helpless mice)

Htr1a – ген 5-НТ_{1A} рецептора

M76C –линия мышей (AKR.CBA-D13Mit76)

MSME – (Multi Slice Multi Spin Echo) метод спинового эха многосрезового сканирования

RARE – (rapid acquisition with relaxation enhancement) метод турбо-спинового эха

Slc6a4 – ген белка транспортера серотонина

ТС-2153 – 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амин гидрохлорид

TrkB – tropomyosin-related kinase B – киназа B, родственная тропомиозину

Введение

Актуальность проблемы.

Депрессия - это тяжелое психическое заболевание. Известно, что 26% женщин и 12% мужчин в развитых странах страдают депрессией. По данным Всемирной Организации Здравоохранения к 2030 году этот недуг займет второе место среди заболеваний, связанных с потерей трудоспособности (Lam, Mok, 2008). Депрессия характеризуется нарушением баланса позитивных и негативных эмоций. Предполагают, что причиной депрессивной симптоматики является нарушения медиаторных систем мозга. Особое внимание отводится снижению функции серотониновой (5-НТ) системы (Maes, Meltzer, 1995; Van Praag, 2004). В пользу этой теории говорит множество клинических фактов: бедная триптофаном диета и опустошение депо резерпином вызывают рецидивы у больных, имеются множество данных об изменении концентрации 5-НТ и 5-гидроксииндолуксусной кислоты в спинномозговой жидкости людей, страдающих депрессией, и самоубийц, а также о влиянии полиморфизма генов 5-НТ рецепторов и транспортера 5-НТ на развитие депрессии (Bellivier et al., 1998; Moore et al., 2000; Christiansen et al., 2007; Belmaker, 2008; Belmaker, Agam, 2008; Markus, 2008; Niesler et al., 2008; Savitz et al., 2009). Главным доказательством участия 5-НТ системы является то, что антидепрессанты увеличивают концентрацию 5-НТ в мозге (Korte-Bouws et al., 1996; Smolders et al., 2008; Qu et al., 2009).

Антидепрессанты - это группа лекарств, подавляющих симптомы депрессии. Большинство клинически эффективных антидепрессантов классифицируют по структуре и механизму действия на ингибиторы фермента разрушения 5-НТ - моноаминоксидазы А (МАОА) (ипрониазид) (Shih, Thompson, 1999) и транспортера 5-НТ (Lesch, 2004). Последние делятся на трициклические антидепрессанты (имипрамин) и селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (флуоксетин, циталопрам, пароксетин, сертралин). Эти соединения увеличивают концентрацию 5-НТ в синаптической щели, блокируя либо его разрушение, либо обратный захват.

К сожалению, все известные на сегодняшний день антидепрессанты имеют множество недостатков. Большинство из них могут в первые дни приема вызывать негативный эффект, обостряя депрессию. Это связано с активацией 5-НТ_{1A} ауторецепторов, тормозящих импульсную активность 5-НТ нейронов в мозге. При чрезмерно длительном приеме препаратов происходит снижение уровня белка и мРНК ключевого фермента синтеза 5-НТ - триптофангидроксилазы-2 (ТПГ-2) (Moret, Briley, 1992), транспортера (Benmansour. et al., 1999, 2002; Hirano et al., 2005; Mirza et al., 2007) и рецепторов 5-НТ (Casanovas, 1999; Pineyro,

Blier, 1999). Еще одним недостатком антидепрессантов является необходимость принимать антидепрессанты в течение нескольких недель или даже месяцев для достижения терапевтического эффекта (Willner, 1990; Nestler et al. 2002). Это связано со временем, необходимым для снижения уровня белка и мРНК 5-HT_{1A} ауторецепторов (Blier, de Montigny, 1994), а также с длительной адаптацией и изменениями в нейротрофических путях, связанных с активацией нейротрофического фактора мозга BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor), участвующего в процессах выживания и роста нейронов (Duman, 1998). Прием препаратов может привести к возникновению различных побочных эффектов, ухудшающих самочувствие и качество жизни пациентов. Эти данные объясняют, почему около 20-40% больных являются устойчивыми к антидепрессантам.

Поэтому поиск новых антидепрессантов с принципиально новыми механизмами действия, позволяющими повысить эффективность лечения и снизить побочные эффекты, является крайне актуальной задачей. В Новосибирском институте органической химии СО РАН был синтезирован препарат 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амин гидрохлорид (ТС-2153) – синтетический аналог варацина, входящий в семейство бензопентатиепинов. Синтезированный препарат ТС-2153 имеет низкую токсичность (LD₅₀>1000 мг/кг) и обладает анксиолитическим (снижает тревожность в тесте открытого поля) и антиконвульсивным (блокирует коразоловые судороги) действиями (Khomenko, et al., 2009; 2011). Тем не менее, потенциальные психотропные свойства этого препарата вызывают существенный интерес.

Ключевой проблемой при исследовании механизма действия известных и поиска новых антидепрессантов является выбор адекватной экспериментальной модели. В последние годы особое внимание уделяется генетическим моделям. Это связано с тем, что генетические факторы составляют от 40 до 70% риска появления депрессии. В Институте цитологии и генетики СО РАН содержатся линии мышей, отличающиеся по предрасположенности к наследственной каталепсии. Каталепсия – это гипертрофированная реакция замирания. Животное или человек в состоянии каталепсии не способны менять приданную им неудобную позу в течение длительного времени (Карманова, 1964; Klemm, 1989). У человека каталепсия часто наблюдается при серьезных нарушениях функций центральной нервной системы: при травмах мозга, неврологических или психических заболеваниях, таких как депрессия и шизофрения (Колпаков, 1990; Singerman, Raheja, 1994). На базе двух родительских линий - некаталептической АКР (0% каталептиков) и каталептической СВА (50% каталептиков), были созданы уникальные каталептические линии мышей: конгенная линия М76С (AKR.CBA.D13Mit76) и ASC (Antidepressant Sensitive

Catalepsy). Линия M76C была получена переносом главного локуса каталепсии из генома мышей линии CBA в геном AKR. Было показано, что 50% животных этой линии проявляют каталепсию, также мыши линии M76C характеризуются плохой обучаемостью в тесте Морриса и повышенной агрессивностью (Kulikov et al., 2008a; Кондаурова и др., 2010; Kulikov et al., 2014). Линия мышей ASC была получена путем селекции на предрасположенность к наследственной каталепсии. Около 75% животных этой линии проявляют каталепсию. Мыши линии ASC характеризуются множественными депрессивноподобными нарушениями поведения (Базовкина и др., 2005, Кондаурова и др., 2007; Дубровина и др., 2008; Тихонова и др., 2010). Хроническое введение классических антидепрессантов (флуоксетина и имипрамина) и однократное введение BDNF подавляют выраженность каталепсии у мышей этой линии (Тихонова и др., 2006; 2009a; 2009b). Кроме того, у этих мышей выявлены значительные изменения в 5-НТ системе головного мозга (Науменко и др., 2006a, Naumenko et al., 2010).

Описанные особенности этих линий мышей, дают основание считать их, и прежде всего линию ASC, перспективными моделями для исследования участия 5-НТ системы и нейротрофического фактора мозга BDNF в механизмах наследственной нейропатологии, а также в механизмах действия психотропных препаратов.

Целью данной работы было изучение влияния препарата ТС-2153 (8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепина-6-амина гидрохлорида) на поведение, серотониновую систему и нейротрофический фактор мозга (BDNF) мышей, генетически предрасположенных к нейропатологии.

Были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить морфологические особенности строения мозга у мышей с различной предрасположенностью к каталепсии;
2. Исследовать влияние препарата ТС-2153 на двигательную и исследовательскую активности, а также на тревожность и выраженность каталепсии;
3. Изучить возможности коррекции депрессивноподобного поведения у мышей линии ASC с помощью препарата ТС-2153;
4. Сопоставить поведенческие эффекты классических антидепрессантов (флуоксетина и имипрамина) и ТС-2153 у мышей с генетической предрасположенностью к каталепсии;
5. Исследовать участие серотониновой системы (генов 5-НТ_{1A} рецептора, фермента МАОА, ТПГ-2 и транспортера серотонина) в механизме действия препарата ТС-2153;

6. Изучить влияние препарата ТС-2153 на уровень мРНК гена нейротрофического фактора мозга BDNF и гена одного из его транскрипционных факторов CREB (цАМФ-зависимый транскрипционный фактор).

Научная новизна. В нашей работе впервые показано, что

- 1) препарат ТС-2153 обладает антидепрессантными и антикаталептическими эффектами;
- 2) ТС-2153 снижает экспрессию генов, кодирующих 5-HT_{1A} рецептор и MAOA, в среднем мозге;
- 3) ТС-2153 увеличивает экспрессию гена, кодирующего BDNF, в гиппокампе;
- 4) ТС-2153 не оказывает негативных побочных эффектов, таких как снижение двигательной и исследовательской активностей и увеличение тревожности, в отличие от классических антидепрессантов, флуоксетина и имипрамина;
- 5) мыши с наследственной предрасположенностью к каталепсии характеризуются меньшим размером гипофиза, чем некаталептические;
- 6) депрессивноподобная линия мышей ASC характеризуется меньшими размерами гипофиза, стриатума, мозолистого тела и промежуточного мозга по сравнению с родительскими линиями и конгенной AKR.CBA-D13Mit76.

Теоретическая и научно-практическая ценность работы. Основным вкладом этого исследования в изучение механизмов возникновения депрессии и способов ее коррекции является то, что были описаны эффекты препарата ТС-2153, такие как антидепрессантный и антикаталептический. Это соединение в средних дозах не оказывает видимых побочных эффектов на двигательную, исследовательскую активности и тревожность. Показано участие серотониновой системы и нейротрофического фактора мозга BDNF в механизме действия этого потенциального антидепрессанта. Обнаруженная связь морфологических изменений в мозге с каталепсией является еще одним доводом в пользу использования линий мышей ASC и AKR.CBA-D13Mit76 как экспериментальных моделей психопатологии. Полученные данные используются в курсе лекций «Молекулярные механизмы поведения» для студентов 4 курса факультета естественных наук Новосибирского Государственного Университета.

Положения, выносимые на защиту:

1. Препарат ТС-2153 обладает антидепрессантными и антикаталептическими эффектами без видимых побочных эффектов на двигательную и исследовательскую активности, а также тревожность у мышей линий CBA, ASC и AKR.CBA-D13Mit76;

2. Обнаружена связь морфологических изменений в мозге с наследственной предрасположенностью к катаlepsии;

3. Животные линии ASC характеризуются уменьшением некоторых структур мозга по сравнению родительскими линиями CBA, AKR и AKR.CBA-D13Mit76;

4. Серотониновая система и нейротрофический фактор мозга BDNF участвуют в механизме действия препарата ТС-2153.

Апробация результатов. Полученные результаты были представлены и обсуждены на XLIX и 50-ой Международных научных студенческих конференциях «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2011, 2012), II международной научно-практической конференции «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине: геномика, протеомика и биоинформатика» (Новосибирск, 2011), International Summer School «Neurogenetics. Unraveling behavior and brain mechanisms using modern technologies» (Zvenigorod, 2012), FENS Featured Regional Meeting (Prague, 2013); FENS Featured Meeting (Milan, 2014).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ, из них 4 статьи в рецензируемых отечественных (1) и международных (3) журналах, 6 тезисов на всероссийских (3) и на международных конференциях (3).

Соавторство и благодарности. Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю профессору, д.м.н. Н.К. Поповой (лаборатория нейрогеномики поведения ИЦиГ СО РАН); главному идейному вдохновителю профессору, д.б.н. А.В. Куликову (отдел генофондов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН) за совместную работу и помощь в проведении тестов на катаlepsию; к.б.н. М.А. Тихоновой (лаборатория эволюционной генетики ИЦиГ СО РАН) за помощь в освоении поведенческих тестов, способов введений препаратов и метода количественного ОТ-ПЦР; к.б.н. А.Е. Акулову (лаборатория экологической генетики млекопитающих ИЦиГ СО РАН) за совместную работу по магнитно-резонансной томографии; Отделу медицинской химии Новосибирского института органической химии за предоставление препарата ТС-2153.

Структура и объем работы. Диссертация включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы, список цитируемой литературы (226 источников). Работа изложена на 82 страницах, содержит 16 оригинальных рисунков и 6 таблиц.

Глава 1. Обзор литературы. Участие серотониновой системы и нейротрофического фактора мозга в механизме депрессии.

Экспериментальные модели психопатологии

1.1. Депрессия

Депрессия (лат. *depressio* – подавление) - психическое расстройство, характеризующееся отрицательным эмоциональным фоном, изменением мотивационной среды, когнитивных представлений и общей пассивностью поведения. Подобное состояние сохраняется даже тогда, когда внешняя причина исчезает, или вовсе не существует объективных причин его возникновения. Основные признаки депрессии: нарушения сна (бессонница или сонливость), аппетита (гипо- или гиперфагия), сексуальных функций, снижение активности, потеря интереса и способности получать удовольствия (ангедония), плохое настроение, тревожность, когнитивные нарушения (ухудшение внимания, памяти, интеллектуальной деятельности) и депрессивная идея, которая включает чувство вины, мысли о собственной бесполезности и суициде (Lam, Mok, 2008).

По данным Всемирной Организации Здравоохранения депрессия входит в четверку самых распространенных и тяжелых заболеваний человека. В индустриальных странах клинической депрессией страдает около 12% мужчин и 20% женщин. Предсказывают, что к 2030 году это заболевание займет второе место по количеству смертей (Belmaker, Agam, 2008; Lam, Mok, 2008).

Существует множество типов депрессии, но выделяют в основном большое депрессивное расстройство (*major depression*), дистимию (хроническое нарушение настроения, когда человек жалуется на почти ежедневное плохое настроение на протяжении не менее двух лет) и иные депрессивные расстройства (расстройства, причиняющие ущерб, но не подходящие под официально определённые диагнозы).

Наиболее хорошо изучено большое депрессивное расстройство, которое, в свою очередь, подразделяется на подтипы, различающиеся по клиническим признакам и характерам депрессивных эпизодов.

1. Меланхолическая депрессия – характеризуется меланхолическими признаками, такими как ангедония, потеря веса, чувство вины, утреннее ухудшение настроения, раннее пробуждение, психомоторная заторможенность.

2. Атипичная депрессия – характеризуется реактивностью и позитивностью, увеличением веса, повышением аппетита, увеличением количества сна и сонливостью,

нехваткой социализации, как следствия гиперчувствительности к кажущемуся социальному отвержению.

3. Психотическая депрессия – наблюдается при длительном течении депрессивного периода, характеризуется психотическими симптомами, такими как бредовые идеи и галлюцинации.

4. Кататоническая депрессия – характеризуется расстройствами двигательной системы, такими как кататония и каталепсия, человек находится в ступоре, недвижим, либо совершает бесцельные и аномальные движения.

5. Сезонная депрессия – характеризуется возникновением или угасанием симптомов в определенные периоды года.

6. Послеродовая депрессия – начинается в течение 4 недель после родов.

По происхождению депрессия делится на две группы: реактивная и эндогенная депрессии. Реактивная депрессия вызывается внешними факторами, чаще всего потерей (или страхом потери) социального статуса и смертью (или страхом возможной смерти) близких. Эндогенная депрессия не имеет непосредственной причинно-временной связи с травмирующими факторами, и может пройти значительный период времени от травмирующего фактора до развития депрессии (Lam, Mok, 2008).

Депрессия включает широкое разнообразие синдромов, что позволяет говорить об участии биологических, психологических и социальных факторов в развитии этого заболевания. Подобная гетерогенность депрессии усложняет попытки создания адекватной экспериментальной модели.

1.2. Экспериментальные модели депрессии

В настоящее время, предложено большое число различных экспериментальных моделей депрессии на грызунах. (Willner, 1990; Geyer, Markou, 1995; Willner, Mitchell, 2002; Tecott, 2003; Cryan, Mombereau, 2004; Yacoubi, Vaugeois, 2007). Для оценки их адекватности были разработаны и приняты три основных критерия - *face*, *predictive* и *construct validity*, которым должна соответствовать любая предлагаемая модель патологии (Willner, 1990; Geyer, Markou, 1995; Willner, Mitchell, 2002). Критерий *face validity* означает соответствие поведенческих характеристик модели симптоматике моделируемой патологии. Очевидно, что моделировать можно только такие симптомы депрессии, как снижение моторики, изменения аппетита, сна, половой активности, социального поведения. Критерий *predictive validity* означает сходное воздействие фармакологических препаратов на измеряемые характеристики модели и депрессивную симптоматику. Критерий *construct validity*

предполагает, что в основе исследуемых изменений модели и депрессии должны лежать одни и те же молекулярные и нейробиологические процессы (Willner, 1990). Поскольку точные знания о молекулярных механизмах депрессии отсутствуют, предполагается, что модель должна согласоваться с существующими представлениями о механизме патологии. К сожалению, в настоящее время, всем трем критериям соответствуют лишь небольшое количество моделей, намного чаще встречается соответствие какому-то одному критерию.

Существующие модели депрессии делятся на 1) вызванные разрушением структур мозга (удаление обонятельных луковиц) (Jesberger, Richardson 1988), 2) вызванные неизбежным стрессом (Willner, 1990) и 3) генетические модели депрессии (Cryan, Mombereau, 2004). К изменениям, вызванным неизбежным стрессом, относятся модели: выученная беспомощность (Maier, Seligman 1976), хронический умеренный стресс (Willner, 1990), tail suspension (Steru et al., 1985) и, конечно же, тест принудительного плавания (Porsolt et al., 1977). Тест принудительного плавания является классическим тестом на антидепрессантную активность препаратов и характеризуется самым высоким *predictive validity*, так как все клинические антидепрессанты уменьшают время неподвижности животного в этом тесте (Willner, 1990). Особое внимание в последние годы уделяется генетическим моделям. Это связано с тем, что генетические факторы составляют от 40 до 70% риска появления депрессии. Генетические модели депрессии представлены инбредными линиями (Базовкина и др., 2005; Kulikov et al., 2008a), нокаутными (Wellman et al., 2007; Klemenhagen et al., 2006) и селекционированными линиями мышей и крыс (Cryan, Mombereau, 2004). Основным недостатком инбредных линий является то, что они различаются по многим генетическим, нейрохимическим и поведенческим характеристикам и практически невозможно выделить параметры, связанные именно с депрессией, из этого бесконечного разнообразия изменений. Тем не менее, использование большого набора инбредных линий позволяют быстро сузить круг поиска предполагаемых механизмов депрессии. Животные с нокаутом по генам, вовлеченным в регуляцию функции нервной системы, являются удобным инструментом для изучения роли этих генов в механизме депрессии (Wellman et al., 2007; Klemenhagen et al., 2006). Однако их ценность ограничена сильными компенсаторными процессами, вызванными нокаутом. Перспективным направлением является селекция линий животных, фенотип которых соответствует отдельным симптомам депрессивного состояния, то есть отбор по критериям *face validity*. Наиболее изученными генетическими моделями депрессии, которые в различной степени соответствуют всем трем критериям валидности, являются ронские мыши HL (Yacoubi et al., 2003), фландровские крысы FSL (Overstreet et al., 1979), крысы линии ГК (Генетические

Каталептики) (Колпаков и др., 1999) и мыши ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy) (Базовкина и др., 2005; Kulikov et al., 2008a).

Мыши линии HL были селекционированы в городе Рон (Франция) на длительное время замирания в тесте tail suspension (Yacoubi et al., 2003). Фландеровские крысы FSL являются наиболее изученной моделью депрессии, эта модель была получена благодаря селекции на чувствительность к ингибитору ацетилхолинэстеразы, диизопропилфлуорофосфату (Overstreet et al., 1979). Крысы линии ГК и мыши линии ASC были выведены в Институте цитологии и генетики СО РАН в результате селекции на высокую предрасположенность к реакции замирания (каталепсии) (Колпаков и др., 1999; Базовкина и др., 2005; Kulikov et al., 2008a).

Каталепсия – длительная неподвижность с повышенным тонусом гравитационной мускулатуры, способность сохранять приданную неудобную позу длительное время (Карманова, 1964; Klemm, 1989). Феномен представляет собой пассивное оборонительное поведение и обнаружен у всех позвоночных. У птиц и млекопитающих каталепсия обычно ассоциируется с боязнью и проявляется, как оцепенение в ответ на появление хищника или другого раздражающего стимула, как альтернатива активному избеганию или агрессии (Sergeant, Eberhard, 1975; Gallup, 1977; Gallup et al, 1983; Klemm, 1990; Dixon, 1998; Popova, 1999; Попова, 1997, 2004). Предполагается, что эта реакция также является элементом копулятивного поведения самок, поведения подчинения во внутривидовых конфликтах и поведения детенышей при транспортировке их матерью (Komisaruk, 1974; Dixon, 1998; Brewster, Leon, 1980). У человека оборонительная задача каталепсии утеряна и является одним из синдромов ряда тяжелых психических и нервных заболеваний, таких как шизофрения и депрессия (Singerman, Raheja, 1994; Колпаков, 1990).

У лабораторных грызунов каталепсию можно вызывать введением антагонистов дофаминовых D2 рецепторов, галоперидола или раклопрайда (галоперидоловая каталепсия) (Sanberg et al., 1988; Klemm, 1989) или морфина (морфиновая каталепсия) (Vander-Wende, Spoerlein, 1979; De Ryck, Teitelbaum, 1984). В то же время спонтанная каталепсия у крыс наблюдается менее чем у 10% особей. Колпаковым В.Г. с соавторами была проведена успешная селекция крыс Вистар на предрасположенность к каталепсии (Kolpakov et al., 1981) и получена линия крыс ГК (Генетическая Каталепсия), в которой длительное замирание наблюдалась у более чем 50% крыс (Колпаков и др., 1999).

У мышей реакцию замирания можно вызвать с помощью пощипывания кожи загривка (щипковая каталепсия) (Ornstein, Amir, 1981). Было обнаружено значительное межлинейное различие в предрасположенности к щипковой каталепсии у мышей (Куликов и др., 1989;

Kulikov et al., 1993). Катаlepsия никогда не наблюдалась у мышей AKR/J, C57BL/6J, DBA/1J, CC57BR/Mv линий. В линиях C3H/HeJ, A/He, BALB/cLac, DD/He только у около 10% мышей наблюдалась катаlepsия. Значительная предрасположенность к щипковой катаlepsии была обнаружена у мышей линии CBA/LacJ, около 54% животных демонстрировали неподвижность в течение 60 секунд и более после 5-6 щипков (Kulikov et al., 1993). На основе этой линии в ИЦиГ СО РАН Куликовым А.В. с соавторами были выведены две уникальные линии мышей ASC (Antidepressants Sensitive Cataleptics) и AKR.CBA-D13Mit76 (M76C).

Конгенная линия мышей M76C была получена переносом главного локуса катаlepsии из генома катаlepsической линии CBA в геном некатаlepsической линии AKR. Главный локус катаlepsии был картирован А.В. Куликовым с соавторами при помощи QTL-анализа, в котором использовалось 65 полиморфных микросателлитных маркеров (Куликов и др., 2003). Было выявлено сцепление данного признака с терминальным фрагментом хромосомы 13 (Куликов, Базовкина, 2003; Куликов и др., 2003). При помощи более детального анализа, было обнаружено, что локус, кодирующий 20% наследственной изменчивости по предрасположенности к катаlepsии, ограничен двумя микросателлитными маркерами – D13Mit76 (61 cM) и D13Mit214 (71cM) (Kulikov et al., 2008a). Мыши линии M76C были получены путем 8 последовательных скрещиваний самцов гибридов (AKR x CBA) F_1 с самками AKR. После 9 скрещиваний гетерозиготных мышей скрещивали между собой для получения животных с CBA-аллелем D13Mit76 в геноме AKR. Полученная линия AKR.CBA-D13Mit76 обладает фрагментом хромосомы от мышей CBA, ограниченным микросателлитными маркерами – D13Mit74 (59 cM) и D13Mit214 (71cM), и является гомозиготой по CBA-аллелю D13Mit74 и по AKR-аллелю D13Mit214 (Kulikov et al., 2008a). Вместе с CBA-аллелем локуса катаlepsии в линию AKR.CBA-D13Mit76 был перенесен CBA-аллель гена 5-HT_{1A}-рецептора, локализованный 1 cM проксимальнее (58 cM) маркера D13Mit74.

Было показано, что количество катаlepsиков среди мышей линии M76C составляет 50%, как и у родительской линии CBA. Также эта линия характеризуется сниженным исследовательским поведением в тесте «открытое поле» и повышенной агрессивностью (Кондаурова и др., 2010). Мышей линии M76C характеризуются нарушением памяти и пространственного обучения в тесте «лабиринт Морриса» (Kulikov et al., 2014). У этой линии было обнаружено достоверное увеличение экспрессии гена 5-HT_{1A}-рецептора в среднем мозге по сравнению с родительской линией CBA, но уменьшение по сравнению с AKR в гиппокампе и среднем мозге (Куликов и др., 2009), и в тоже время увеличение

функциональной активности этих рецепторов по сравнению с АКР. Таким образом, геном реципиентной линии АКР повлиял на уровень экспрессии этого гена. Можно предположить, что ген 5-НТ_{1А}-рецептора вовлечен в повышении агрессии и каталепсии у животных линии М76С, так как ранее было показано, что этот рецептор у грызунов участвует в регуляции этих форм поведения. Агонисты 5-НТ_{1А}-рецептора снижают как наследственную каталепсию, так и межсамцовую агрессию (Olivier et al., 1995; Попова, 2004; Popova, 2006). В то же время, у мышей М76С было обнаружено достоверное уменьшение экспрессии гена 5-НТ_{2А}-рецептора в гиппокампе и среднем мозге (Naumenko et al., 2010) и уменьшение экспрессии гена ТПГ-2 в среднем мозге по сравнению с АКР (Куликов и др., 2009; Куликов и др., 2010). Однократное введение BDNF в желудочек мозга привело к повышению обучаемости этих мышей (Kulikov et al., 2014). Известно, что слабая обучаемость связана с различными психическими заболеваниями. Коррекция обучаемости с помощью BDNF говорит о потенциальной нейродегенеративной природе этого нарушения у данной линии.

Адекватной и перспективной моделью депрессивноподобного поведения на мышах является линия ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy) (Базовкина и др., 2005; Kondaurova et al., 2006; Kulikov et al., 2008a). Линию ASC получали путем скрещивания двух противоположных по отношению к каталепсии линий: склонной к действию щипковой каталепсии линии СВА и устойчивой к каталепсии АКР. Гибриды первого поколения не демонстрировали каталепсию, что говорит о рецессивном характере этой черты. Затем полученных гибридов скрещивали с родительской линией СВА. Среди данных беккроссов были отобраны каталептики из разных семей, и с ними продолжали селекцию на предрасположенность к каталепсии. С пятого поколения селекцию проводили, используя брат-сестринский инбридинг. С восьмого поколения селекцию прекратили. Такая схема скрещивания позволила избежать закрепления случайных сочетаний признаков у селекционируемых мышей.

Уникальная линия мышей ASC соответствует всем критериям валидности модели депрессии.

Face validity. Селекция на каталепсию привела к закреплению у мышей ASC депрессивных признаков родительских линий АКР и СВА. Животные линии ASC характеризуются такими депрессивноподобными формами поведения, как длительная неподвижность в тесте принудительного плавания и tail suspension, наблюдаемая у животных АКР, и сниженная двигательная активность в тесте принудительного плавания, наблюдаемая у животных СВА (Базовкина и др., 2005). У ASC наблюдается нарушение угашения условной реакции пассивного избегания, и, следовательно, дефект переучивания (Дубровина

и др., 2008). Отсутствие форсированного угасания страха говорит о гиперчувствительности этих особей к неприятным стимулам (Зиновьев и др., 2009). Известно, что негативная оценка обстановки и усиление тревожности свойственны особям с депрессивноподобным состоянием (Bush et al., 2007; Myers, Davis, 2007). У этой линии было обнаружено увеличение амплитуды рефлекса вздрагивания и снижение агрессивного поведения (Кондаурова и др., 2007), а также нарушение полового мотивационного поведения, проявляющегося у 50% людей больных депрессией (Тихонова и др., 2010). Наблюдалось ослабление иммунного ответа на антиген по сравнению с родительскими линиями, что также характерно для депрессивных больных (Альперина и др., 2007).

Predictive validity. Каталепсия у мышей ASC не чувствительна к острому введению антидепрессантов, имипрамина или флуоксетина, тогда как их хроническое введение, значительно снижает время неподвижности и процент каталептиков (Тихонова и др., 2006; Тихонова и др., 2009а). Более того, хроническое введение флуоксетина ослабляет проявление каталепсии и нормализует иммунный ответ у мышей линии ASC, но не у животных линии СВА (Тихонова и др., 2009а). Однократное введение BDNF в боковой желудочек мозга подавляет проявление каталепсии у мышей ASC (Тихонова и др., 2009b; Tikhonova et al., 2012).

Construct validity. В настоящий момент молекулярная природа «депрессивного» поведения мышей ASC не ясна. Однако у мышей этой линии обнаружены существенные изменения в серотониновой системе мозга. У них увеличена функциональная активность 5-HT_{1A}-рецепторов по сравнению с некаталептической линией AKR (Науменко и др., 2006а). Также обнаружено уменьшение экспрессии гена 5-HT_{2A}-рецептора и уменьшение функциональной активности этого рецептора по сравнению с некаталептической линией AKR (Naumenko et al., 2010). Снижение активности 5-HT_{2A}-рецепторов согласуется с данными, полученными при исследовании депрессивных больных (Clear et al., 1995; 1996). Наблюдаемая задержка терапевтического действия антидепрессантов у мышей линии ASC (Тихонова и др., 2006, 2009а), возможно, связана с нейродегенеративными процессами в мозге этой линии, так как при хроническом введении антидепрессантов запускаются процессы нейрогенеза, выживаемости нейронов и синаптогенеза (McAllister et al., 1999; Goldberg, Barres, 2000; Hashimoto, 2010; Calabrese et al., 2011). Кроме того, косвенным доказательством этого предположения также служит антикаталептическое и антидепрессивное действие BDNF на мышей линии ASC (Тихонова и др., 2009b; Tikhonova et al., 2012). Были также обнаружены антикаталептический и антидепрессантный эффекты тироксина на поведение мышей линии ASC (Зубков и др., 2008; Зубков, Куликов, 2009), что

хорошо согласуется с представлениями о существенной роли нарушений тиреоидного статуса в патогенезе депрессивных расстройств (Cleare et al., 1995; 1996; Bauer et al., 2002).

Таким образом, в линии ASC сочетаются различные депрессивноподобные характеристики, случайно распределенные у родительских линий CBA и AKR (Куликов, 2004). Так, функциональная активность 5HT_{1A}-рецепторов у мышей линии ASC такая же, как у мышей родительской линии CBA (Науменко и др., 2006а). Эти рецепторы участвуют в регуляции реакции замирания и ген, регулирующий 5HT_{1A}-рецептор, располагается в дистальном фрагменте 13 хромосомы. И генетически детерминированная каталепсия связана с повышением функциональной активности 5HT_{1A}-рецепторов (Куликов, 2004). Однако при выведении каталептической конгенной линии M76C, содержащей в геноме некаталептической линии AKR фрагмент хромосомы 13 каталептической линии CBA, было обнаружено, что это линия содержит 50% каталептиков, схожий с процентом каталептиков в линии CBA, но меньший по сравнению с ASC (Kondaurova et al., 2006). Следовательно, депрессивноподобные характеристики распределены случайным образом в геноме родительских линий, и в ходе селекции на предрасположенность к каталепсии захватываются гены-модификаторы, которые усиливают депрессивные черты поведения (Кондаурова и др., 2010) и проявляются у линии ASC значительными изменениями в нервной системе, сходными с наблюдаемыми при депрессивных расстройствах. Вышеприведенные данные позволяют рассматривать линию ASC как удобную и адекватную генетическую модель депрессии.

В настоящее время выделяют множество факторов, способных повлиять на развитие депрессии: генетические факторы, воздействие стресса, нарушение медиаторных систем мозга и нейродегенеративные процессы в мозге. Существует множество гипотез возникновения депрессии, которые дополняют друг друга, но внимание уделяется преимущественно нарушениям медиаторных систем мозга, и особенно серотониновой системе (серотониновая гипотеза).

1.3.Участие серотониновой системы головного мозга в механизмах возникновения депрессии и действии антидепрессантов

Серотониновая система головного мозга - это совокупность нейронов, которые синтезируют серотонин и используют его как основной медиатор. 5-НТ нейроны можно разделить на две большие группы. К первой группе относятся нейроны, тела которых расположены в продолговатом мозге (кластеры В1-В3), а аксоны входят в состав бульбо-спинального пути (Dahlstrom, Fuxe, 1965). Вторую группу составляют нейроны,

расположенные в области шва среднего мозга. Они организованы в шесть кластеров (B4-B9) и посылают восходящие волокна в передние отделы мозга (Dahlstrom, Fuxe, 1964). У млекопитающих основная масса восходящих 5-НТ волокон берет начало из двух ядер среднего мозга: *n. raphe dorsalis* и *n. raphe medianus* (Jacobs, Azmitia, 1992). 5-НТ система самая экспансивная и образует нервные окончания во всех отделах мозга, кроме мозжечка. В коре головного мозга млекопитающих на один мм² приходится около 6 млн. 5-НТ окончаний (Jacobs, Azmitia, 1992). Помимо классических синаптических окончаний, в которых 5-НТ выступает в качестве медиатора, наблюдается значительное число окончаний, секретирующих 5-НТ непосредственно в межклеточное пространство (Descarries et al., 1975; Beaudet, Descarries, 1976; 1987), что свидетельствует о потенциальной роли 5-НТ в качестве нейрого르몬а в регуляции процессов в мозге (Jacobs, Azmitia, 1992).

В мозге 5-НТ синтезируется из своего предшественника L-триптофана. Синтез проходит в два этапа. На первом этапе фермент ТПГ-2 гидроксилирует L-триптофан до 5-гидрокситриптофана, эта реакция является ключевой и ограничивает синтез серотонина (Fitzpatrick, 1999; Walther et al., 2003; Walther, Bader, 2003). Фермент ТПГ-2 является биохимическим маркером 5-НТ нейронов (Walther, Bader, 2003). Нокаут по гену ТПГ-2 (Savelieva et al., 2008; Alenina et al., 2009) или введение необратимого ингибитора фермента пара-хлорфенилаланина (Кое, Weissman, 1966; Kornum et al., 2006) резко снижают концентрацию 5-НТ в мозге. На втором этапе синтеза фермент декарбоксилаза L-ароматических аминокислот декарбоксилирует 5-гидрокситриптофан до 5-НТ. Декарбоксилаза ароматических аминокислот не является специфической для 5-НТ нейронов и экспрессируется также в нейронах, синтезирующих катехоламины (Albert et al., 1987). Синтезированный медиатор депонируется в везикулы, транспортируется в окончания и при деполяризации нейрона секретируется в синаптическую щель, где он взаимодействует с многочисленными серотониновыми рецепторами. 5-НТ удаляется из синаптической щели в пресинаптические нейроны или глиальные клетки с помощью белка - транспортера (Barker, Blakey, 1995) и там разрушается с помощью находящегося на внешней мембране митохондрий фермента моноаминоксидазы А (МАОА) до 5-гидроксииндолуксусной кислоты (Shih, Tompson, 1999). Ингибиторы транспортера (Smolders et al., 2008; Qu et al., 2009) и МАОА (Korte-Bouws et al., 1996) вызывают повышение концентрации 5-НТ в синаптической щели.

Рецепторы 5-НТ по характеру трансдукции сигнала, аминокислотной последовательности и чувствительности к известным агонистам и антагонистам разделены на семь типов и 14 подтипов (Saudou, Hen, 1994; Barnes, Sharp, 1999). Большинство

рецепторов 5-НТ являются метаботропными и сопряжены с G-белками (Barnes, Sharp, 1999). 5-НТ₃ является единственным ионотропным рецептором и образует натрий-калиевый канал (Maricq et al., 1991; Thompson, Lummis et al, 2006, 2007). Рецепторы 5-НТ₄, 5-НТ_{5A}, 5-НТ₆, 5-НТ₇ сопряжены с Gs-белком, и соответственно, их активация стимулирует аденилатциклазу и синтез цАМФ. Рецепторы 5-НТ_{1A}, 5-НТ_{1B}, 5-НТ_{1D}, 5-НТ_{1E}, 5-НТ_{1F} сопряжены с Gi-белком и их активация ингибирует аденилатциклазу, синтез цАМФ, открывает K⁺ каналы, что приводит к гиперполяризации мембраны (Aghajanian, 1995; Deng et al., 2007). Локализованные на телах 5-НТ нейронов 5-НТ_{1A} ауторецепторы регулируют активность нейронов по принципу обратной связи – их активация эндогенным 5-НТ или синтетическим агонистом 8-ОН-DPAT снижает импульсную активность нейрона и секрецию медиатора (Barnes, Sharp, 1999). 5-НТ_{1A}-рецепторы вовлечены в механизм тревожности. Нокаутные мыши по 5-НТ_{1A}-рецептору характеризуются повышенной тревожностью (Parks et al., 1998; Guilloux et al., 2011), тогда как трансгенные мыши с повышенной экспрессией 5-НТ_{1A}-рецептора характеризуются уменьшением тревожного поведения (Kusserow et al., 2004). Агонисты 5-НТ_{1A}-рецептора, буспирон и 8-ОН-DPAT, проявляют анксиолитическую активность (Feighner, Boyer, 1989; Lalonde, Strazielle, 2010). Рецепторы 5-НТ_{2A}, 5-НТ_{2B} и 5-НТ_{2C} сопряжены с Gq-белком и их активация стимулирует фосфолипазу C, синтез инозитол трифосфата и увеличение концентрации эндогенного Ca⁺⁺ в нейроне. цАМФ и Ca⁺⁺ являются важнейшими вторичными посредниками, регулирующими многие процессы в клетках (Schulman, Robertz, 2003; Пальцев и др., 2003). Четыре молекулы цАМФ активируют протеинкиназу А, которая в свою очередь фосфорилирует множество белков в клетке. Ионы Ca⁺⁺ активируют протеинкиназу С и кальций-кальмодулин зависимую протеинкиназу 2. Протеинкиназа С активирует транскрипционный фактор AP1, который регулирует экспрессию многих генов (Duman, 1998, 2002; Schulman, Robertz, 2003).

Таким образом, ключевую роль в регуляции функциональной активности 5-НТ нейрона играют следующие белки: ТПГ-2, 5-НТ_{1A}-рецептор, белок – 5НТ-транспортер и МАОА.

Благодаря высокой плотности 5-НТ окончаний в различных отделах мозга и большому разнообразию типов рецепторов, 5-НТ система обладает полифункциональностью и вовлечена в регуляцию многих процессов в центральной нервной системе, физиологических функций и различных форм поведения (Zifa, Fillion, 1992; Saudou, Hen, 1994; Попова, Куликов, 2003). Действительно, 5-НТ участвует в регуляции сна, полового, пищевого, агрессивного поведения, терморегуляции и в целого ряда различных форм поведения и физиологических функций (Попова и др., 1978; Lucki I., 1998; Popova,

Amstislavskaya, 2002a; 2002b; Popova, 2006; Markus, 2008). Практически важным является участие 5-НТ в механизме депрессии и действия антидепрессантов.

Наибольшее число клинических наблюдений свидетельствуют о связи депрессивной симптоматики со снижением функции 5-НТ системы мозга (серотониновая гипотеза) (Maes, Meltzer, 1995; Van Praag, 2004). Имеющиеся данные можно разделить на две категории. К первой категории относятся наблюдения об изменении 1) концентрации 5-НТ и/или 5-Н1АА в спинномозговой жидкости, 2) плотности рецепторов 5-НТ в головном мозге и 3) ассоциации между полиморфизмом в генах, кодирующих рецепторы серотонина, транспортером 5-НТ, МАОА, и риском депрессии у депрессивных больных. Однако, данные этой категории довольно противоречивы; они были показаны одними авторами и не подтверждаются другими. Вторую категорию составляют более воспроизводимые данные по влиянию на выраженность депрессии фармакологической активации или ингибирования 5-НТ функции. Опустошение 5-НТ депо резерпином (Belmaker, 2008; Belmaker, Agam, 2008) или бедная L-триптофаном диета (Moore et al., 2000; Markus, 2008) вызывают обострение и рецидивы у депрессивных больных. Напротив, клинически эффективные антидепрессанты вызывают увеличение концентрации серотонина в синаптической щели (Korte-Bouws et al., 1996; Smolders et al., 2008; Qu et al, 2009).

Антидепрессанты - это группа лекарств, подавляющих симптомы депрессии. Создание антидепрессантов позволило проводить лечение депрессивных психозов амбулаторно в привычных условиях жизни пациента. Молекулярными мишенями для подавляющего большинства клинически активных антидепрессантов являются белки, вовлеченные в регуляцию активности серотониновой системы мозга. По структуре и механизму действия клинически эффективные антидепрессанты классифицируют на ингибиторы МАОА (хлоргилин, ипрониазид) (Shih, Thompson, 1999) и транспортера серотонина (Lesch, 2004). Последние делятся на трициклические антидепрессанты (имипрамин, дезимипрамин) и селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (SSRI, флуоксетин, пароксетин, сертралин) (Schechter et al., 2005). Все эти соединения увеличивают концентрацию серотонина в синаптической щели, блокируя либо его разрушение, либо обратный захват.

К сожалению все клинически эффективные антидепрессанты в первые дни приема способны вызывать рецидивы у больных депрессией, а также остается неясным тот факт, что антидепрессанты взаимодействуют со своими белками-мишенями в течение нескольких минут, тогда как, для наблюдаемого терапевтического эффекта необходимо принимать эти препараты в течение несколько недель или месяцев (Willner, 1990; Nestler et al. 2002).

Канадские исследователи P.Blier и С. De Montigny предложили гипотезу, объясняющую механизм возникновения рецидивов в первые дни приема антидепрессантов и длительную задержку терапевтического эффекта препаратов. Согласно их теории активность антидепрессантов подавляется ауторегуляцией серотониновых нейронов (Blier, de Montigny, 1994). Эта гипотеза основана на способности пресинаптических 5-НТ_{1А} ауторецепторов блокировать активность 5-НТ нейронов и секрецию медиатора. При остром введении антидепрессантов происходит увеличение концентрации 5-НТ в синаптической щели, что, в свою очередь, активирует 5-НТ_{1А} пресинаптические ауторецепторы на телах 5-НТ нейронов и, как следствие, подавляет секрецию медиатора. Следовательно, острое введение антидепрессантов не потенцирует 5-НТ систему, а, наоборот, может ее подавлять. Однако при длительном введении антидепрессантов происходит снижение уровня мРНК и плотности 5-НТ_{1А} пресинаптических рецепторов, что приводит к увеличению секреции 5-НТ и терапевтическому (антидепрессантному) эффекту (Blier, de Montigny, 1994).

Существует и другое объяснение временной задержки терапевтического действия антидепрессантов, которое следует из нейротрофической гипотезы возникновения депрессии.

1.4.Участие нейротрофического фактора мозга BDNF в механизмах возникновения депрессии и действия антидепрессантов

Согласно нейротрофической гипотезе, депрессия является разновидностью нейродегенеративных заболеваний, возникающих из-за изменения концентрации нейротрофического фактора мозга BDNF.

Нейротрофический фактор роста нервов (Nervous Growth Factor, NGF) был впервые обнаружен Ритой Леви-Монтальчини в 1951 году (Levi-Montalcini, 1987). Он стал родоначальником семейства факторов роста. В настоящее время наиболее изученным и интересным представителем этого семейства является BDNF. Это связано с тем, что данный белок, обнаруженный в мозге млекопитающих (Barde et al., 1982), не только участвует в развитии центральной нервной системы в раннем онтогенезе, но также экспрессируется во взрослом мозге и важен для выживания и функционирования нейронов в течение жизни. В больших количествах BDNF экспрессируется в гиппокампе, где он регулирует нейрогенез, выживаемость нейронов и синаптогенез (McAllister K. et al, 1999; Goldberg J. et al, 2000; Hashimoto, 2010; Calabrese et al., 2011). Экспрессия BDNF имеет значение в клеточной пластичности, лежащей в основе клеточных моделей обучения и памяти (McAllister et al, 1999). Были показаны следующие особенности BDNF:

- участие в выживании и развитии нейронов в раннем онтогенезе (Schwartz et al., 1997; Segal, 2003; Chan et al., 2006);
- участие в нейрогенезе и синаптогенезе во взрослом мозге (рост, реконструкция и поддержание стабильности дендритов и аксонов, формирование синапсов) (Bibel, Barde, 2000; Chan et al., 2008);
- регуляция пластичности (восстановление поврежденных нейронов в мозге и на периферии) (Goldberg, Barres, 2000);
- участие в механизме долговременной памяти, за счет возникновения и дальнейшего поддерживания долговременной потенциации (LTP) (Korte et al., 1995);
- противодействие старению (защита клеток от окислительного воздействия и апоптоза) (Гомазков, 2011).

BDNF образуется из своего предшественника пронейротрофина (pro-BDNF). Транскрипция гена *Bdnf* осуществляется с помощью цАМФ-зависимого транскрипционного фактора CREB (cAMP response element-binding protein). Этот белок связывается с последовательностью CRE на молекуле ДНК и стимулирует транскрипцию генов, имеющих CRE-боксы в промоторе. Ген, контролирующий синтез BDNF, включает в себя по меньшей мере восемь промоторов, способных инициировать большое количество (около 18) транскриптов мРНК, в то же время, конечным продуктом является идентичный prepro-BDNF. Этот белок синтезируется в эндоплазматическом ретикулуме и существует очень короткое время, затем образуется pro-BDNF. Из части этого белка в аппарате Гольджи образуется BDNF (Greenberg et al., 2009). Возможно, что такое количество разных промоторов обеспечивает большое количество уровней регуляции, различие в субклеточной локализации и стабильность мРНК или самого BDNF.

Действие BDNF осуществляется за счет связывания с мембранными TrkB рецепторами, обладающими тирозинкиназной активностью. После взаимодействия с BDNF происходит димеризация рецепторных молекул, что приводит к аутофосфорилированию эндоплазматических доменов рецептора. Фосфорилированные тирозиновые остатки TrkB рецептора взаимодействуют с якорными белками, регулирующими MAP-киназный каскад. Кроме того, активация TrkB-рецептора может стимулировать другие сигнальные белки, включающие фосфолипазу-С и фосфатидил-инозитол-3-фосфат (Duman, 1998).

Интерес к исследованию нейротрофического фактора обострился в 1997 г., когда группой американских исследователей была предложена нейротрофическая гипотеза депрессии, в которой ключевую роль отводят нейротрофическому фактору мозга BDNF (Duman et al., 1997). В настоящее время не возникает сомнений, что недостаток BDNF в

мозге приводит к развитию нейродегенеративных процессов (атрофии или смерти нейронов) и возникновению депрессии (Duman et al., 1997; Wiesmann, de Vos, 2001; Duman, 2002). В посмертных исследованиях пациентов, страдавших депрессией, было обнаружено снижение уровня BDNF в мозге (Chen et al., 2001; Karege et al., 2005a; Pandey et al., 2010), а также снижение активности MAP киназного пути и пути синтеза BDNF (Dwivedi et al., 2009; Duric et al., 2010). У депрессивно больных наблюдается снижение уровня BDNF в сыворотке крови (Karege et al., 2005b; Matrisciano et al., 2009).

Введение классических антидепрессантов приводит к увеличению уровня мРНК гена *Bdnf* в гиппокампе, а также к увеличению концентрации BDNF в мозге и, как следствие, к увеличению выживаемости и роста нейронов (Nibuya et al., 1995; 1996; Fujimaki et al., 2000; Coppell et al., 2003; Dias et al., 2003; Molteni et al., 2005). В последние несколько лет за рубежом активно ведутся исследования по использованию BDNF в качестве антидепрессанта. Действительно центральное введение BDNF оказывает антидепрессантный эффект в тестах принудительного плавания и tail suspension и в модели выученной беспомощности (Siuciak et al, 1997; Shirayama et al, 2002; Hoshaw et al., 2005; Sirianni et al., 2010; Tikhonova et al., 2012). Однако BDNF не проникает через гематоэнцефалический барьер (Pardridge, 1998). Поэтому его нельзя вводить парентерально, а только в мозг, что значительно ограничивает его терапевтическое применение.

1.5.Объединение гипотез

Очевидно, что серотониновая и нейротрофическая гипотезы дополняют друг друга и позволяют полнее объяснить молекулярный механизм действия антидепрессантов. Под действием различных антидепрессантов (ингибиторов транспортера и MAOA) происходит увеличение серотонина в тканях мозга. Серотонин, выделенный в синаптическую щель, активирует свои постсинаптические рецепторы, что приводит к увеличению количества цАМФ в стимулируемой клетке (Menkes et al, 1983; Colin et al, 1991; Ozawa and Rasenick, 1991; Duman, 1998), активации протеинкиназы A, фосфорилированию белка CREB (Nibuya et al, 1996) и к увеличению экспрессии BDNF в мозге, и в первую очередь в гиппокампе, (Nibuya et al, 1995, 1996; Hashimoto et al., 2004; Duman, Monteggia, 2006). BDNF, в свою очередь, запускает процесс нейрогенеза (Рис. 1). Этот каскад требует длительного времени для развития благоприятных изменений в нервной системе. Таким образом, задержка, присутствующая при использовании антидепрессантов, возможно, необходима для длительных адаптаций и изменений в нейротрофических путях (Russo-Neustadt, Chen, 2005). Также было обнаружено, что действие антидепрессантов затормаживается у мышей с низким

уровнем BDNF в мозге (Saarelainen et al. 2003; Monteggia et al., 2004; 2007; Deltheil et al., 2008), со сниженной активностью MAP-киназного каскада (Saarelainen et al. 2003; Li et al., 2008) и у животных с полиморфизмом Val66Met в гене белка BDNF (Chen et al., 2006), который снижает активность BDNF. Таким образом, для эффективного действия антидепрессантов необходимо, чтобы путь передачи сигнала BDNF через TrkB-рецептор функционировал нормально.

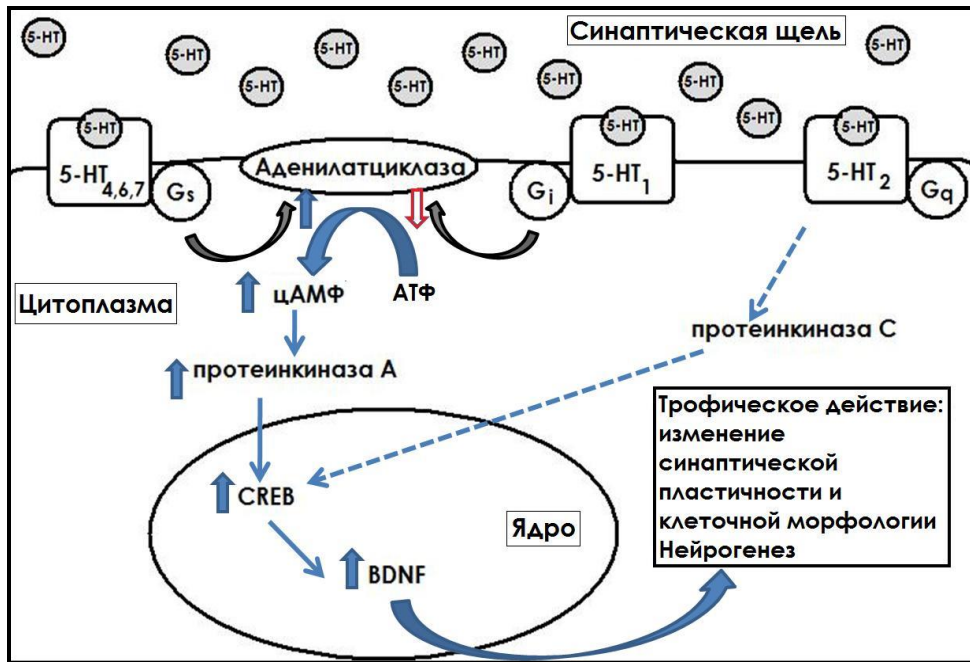


Рис.1. Модель молекулярного действия антидепрессантов, увеличивающих концентрацию 5-НТ в синаптической щели (Duman, 1998 с модификациями).

В то же время, гипотеза Blier и De Montigny (1994) подчеркивает ключевую роль пресинаптических 5-НТ_{1A}-рецепторов в механизме задержки терапевтического эффекта антидепрессантов. Более того, подавление активности 5-НТ нейронов при активации пресинаптических 5-НТ_{1A}-рецепторов может быть причиной негативных эффектов, наблюдаемых в первые дни приема некоторых антидепрессантов (Blier, de Montigny, 1994).

Поэтому, идеальный антидепрессант должен увеличивать концентрацию 5-НТ в синаптической щели, но не активировать 5-НТ_{1A}-рецепторы. Однако это условие реально не может быть выполнено. Совместное введение антидепрессантов с антагонистами 5-НТ_{1A}-рецепторов также не является идеальным решением проблемы. Действительно, антагонисты 5-НТ_{1A}-рецепторов будут блокировать и постсинаптические рецепторы 5-НТ, тем самым подавляя действие антидепрессанта. Наконец, длительное введение антидепрессантов вызывает снижение уровня белка и мРНК ТПГ-2 (Moret, Briley, 1992), транспортера (Benmansour. et al., 1999, 2002; Hirano et al., 2005; Mirza et al., 2007) и рецепторов серотонина

(Casanovas, 1999; Pineyro, Blier, 1999), что приводит к снижению эффекта действия антидепрессанта.

Принципиальным решением этих проблем было бы создание антидепрессантов нового типа.

1.6. Бензопентатиепины

Перспективным направлением поиска антидепрессантов нового поколения является исследование природных биологически активных соединений. Интересную группу таких соединений представляют бензопентатиепины, содержащие пятичленные кольца серы в молекуле. Как синтетические, так и натуральные бензопентатиепины обладают целым рядом интересных биологических свойств. Например, варацин, полученный из асцидии *Lissoclinum vareau*, и N,N-диметил-5-метилтиоварацин, полученный из *Lissoclinum cf. badium*, синтетический 7-метилбензопентатиепин и варацин С имеют высокую цитотоксичность и используются в качестве противоопухолевых препаратов, расщепляющих ДНК (Sato, 1995; Chatterji et al., 1998; Lee et al., 2002). Бензопентатиепин лиссоклинотоксин А, полученный из *Lissoclinum perforatum*, проявляет антимикробные свойства (Litaudon et al., 1994) (Рис.2).

В Новосибирском институте органической химии СО РАН был создан новый препарат 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амин (Рис.2), являющийся синтетическим аналогом варацина. Препарат 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амин (ТС-2153) обладает низким уровнем острой токсичности ($LD_{50} > 1000$ мг/кг) и в дозе 10 мг/ кг эффективно блокирует судороги вызванные коразолом, уменьшает смертность от никотиновых судорог до 75%, также уменьшает длительность ареколиновых судорог до 30%, увеличивает исследовательскую активность в тесте «hole board» (Khomenko, et al., 2009; 2011). Наличие пятичленного кольца из атомов серы резко отличает его от известных антидепрессантов, а отсутствие в ароматическом кольце 2-аминоэтильного заместителя является отличительной чертой от варацинов, характеризующихся цитотоксическим эффектом (Рис.2).

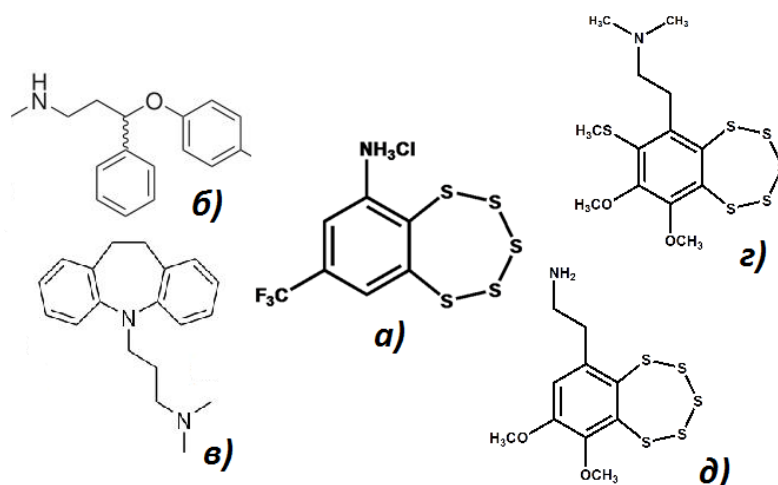


Рис.2. Препараты. а) 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амин (ТС-2153); б) флуоксетин; в) имипрамин; г) N,N-диметил-5-метилтиоварацин; д) варацин.

Потенциальные психотропные свойства препарата ТС-2153 представляют существенный интерес. Было выдвинуто предположение о наличии антидепрессантной активности у данного соединения, однако оно требовало экспериментального подтверждения, кроме того было интересно сопоставить поведенческие эффекты ТС-2153 и классических антидепрессантов у животных с предрасположенностью к наследственной нейропатологии и депрессии.

Глава 2. Материалы и методы

2.1. Экспериментальные животные

Эксперименты проводили на половозрелых самцах мышей, отличающихся по наследственной предрасположенности к каталепсии: некаталептической линии мышей AKR/J (n=68), каталептической линии CBA/Lac (n=68) и на уникальных линиях - ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy) (n=115) и конгенной AKR.CBA-D13Mit76 (M76C) (n=71). Линия мышей ASC была получена селекцией бэккроссов между каталептической линией CBA и устойчивой к каталепсии линии AKR в течение 8 поколений на высокую предрасположенность к каталепсии. В настоящее время линия поддерживается в виварии Института Цитологии и Генетики СО РАН (Новосибирск, Россия) тесным инбридингом (32 поколения инбридинга). Мыши линии ASC характеризуются депрессивноподобным поведением, чувствительностью к антидепрессантам и 75% из них предрасположены к наследственной каталепсии (Базовкина и др. , 2005; Kondaurova et al., 2006; Kulikov et al., 2008a). Линия мышей M76C была получена (Kulikov et al., 2008a) в результате переноса фрагмента хромосомы 13, содержащего главный локус каталепсии, от линии CBA/Lac (донорская линия) в геном линии AKR/J (реципиентная линия). Длина данного фрагмента составляет 59-70 сМ, перенос осуществляли с помощью QTL анализа, фрагмент был маркирован микросателлитами D13Mit74 (59 сМ), D13Mit76 (61 сМ) и D13Mit214 (71 сМ). Перенос включал 9 последовательных скрещиваний гибридов F₁ (CBAxAKR) на реципиентную линию с последующим инбридингом. Линии мышей AKR, CBA и M76C поддерживаются в Институте Цитологии и Генетики СО РАН инбридингом брат-сестра в течение 55, 55 и 20 поколений, соответственно. Около 50% животных конгенной линии M76C характеризуются предрасположенностью к щипковой каталепсии. Такой же процент каталептиков наблюдается и у родительской линии CBA.

В эксперименте использовались особи 3-4 месячного возраста, массой 28 ± 0.5 г. Животных отсаживали от матерей в возрасте 4 недель, делили по полу и содержали по 6 особей в клетках 40 x 25 x 15 см в стандартных условиях (при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$, относительной влажности 65% и естественном освещении). Корм и воду животные получали без ограничения. Содержание и экспериментальные процедуры проводились в соответствии с правилами Совета Европейского Сообщества (Директива 86/309/ЕЕС от 24 ноября 1986 г).

За 2 дня до опыта животных отсаживали в отдельные клетки того же размера, чтобы исключить влияние группового стресса на исследуемые параметры.

2.2. Препараты

Все препараты вводили в объеме 0.1 мл на 10 г веса, Животным контрольной группы вводили соответствующий растворитель в том же объеме.

В работе использовали препарат ТС-2153 в виде соли гидрохлорида 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амин. Мы использовали два способа разведения препарата и два способа его введения. В первом, ТС-2153 смешивали с каплей растворителя ТВИН-80, а затем доводили до нужного объема дистиллированной водой. Препарат вводили в желудок (per os) с помощью специального зонда. Во втором, ТС-2153 разводили в 17% ДМСО и вводили внутривентриально. При per os введении эксперименты проводили на мышах линии ASC, использовали дозы 10, 20, 40 мг/кг веса для острого введения (1-2 дня) и 10 мг/кг веса для хронического (12-13 дней - для поведенческих тестов и 16 дней - для исследования экспрессии генов). При внутривентриальном введении эксперименты проводились на мышах линий AKR, CBA и M76C, использовали дозу 20 мг/кг веса для острого введения.

Клинически эффективные антидепрессанты флуоксетин и имипрамин (Sigma, USA), растворяли в физиологическом растворе и вводили внутривентриально в дозе 20 мг/кг мышам линий AKR, CBA и M76C .

2.3. Экспериментальные серии

Были проведены четыре экспериментальные серии.

В первой серии изучали влияние острого введения различных доз ТС-2153 на поведение мышей линии ASC в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «принудительное плавание» и на выраженность предрасположенности к щипковой каталепсии. Исследования проводилось на 74 самцах, разделенных на четыре группы: контрольную группу – 29 животных и опытные группы (10, 20 и 40 мг/кг) по 15, растворы вводили per os. Мыши контрольной группы и мыши, получавшие препарат в дозе 10 мг/кг, были протестированы в тесте «принудительное плавание». Животных тестировали в тесте «открытого поля» через час после введения препарата или растворителя. Тест на каталепсию проводили спустя 10 минут после теста «открытого поля». На следующий день животных тестировали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт», а спустя 10 минут проводили тест «принудительное плавание».

Во второй серии исследовали влияние хронического введения ТС-2153 в дозе 10 мг/кг на поведение мышей линии ASC. Эксперимент проводился на 30 самцах мышей, которым ежедневно в течение 16 дней вводили препарат *per os*. Поведение животных в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт» и выраженность щипковой каталепсии тестировалось после 12 введений. На 17-е сутки, через 24 ч после последнего введения, по девять случайно выбранных мышей из каждой группы были декапитированы для определения экспрессии генов *Htr1a* (ген кодирует 5-HT_{1A}-рецептор), *Tph2* (кодирует фермент ТПГ-2), *Slc6a4* (кодирует 5-НТ - транспортер), *Maoa* (кодирует фермент деградации серотонина MAOA), *Bdnf* (кодирует нейротрофический фактора мозга) и *Creb1* (кодирует белок CREB).

В третьей серии изучали влияние острого введения ТС-2153, флуоксетина и имипрамина в дозе 20 мг/кг внутривентриально на поведение мышей линий AKR (n = 60), CBA (n = 58), M76C (n=61) в тестах «принудительное плавание», «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт». Введение животным физиологический раствор (контрольный раствор для флуоксетина и имипрамина) или 17% ДМСО (контрольный раствор для ТС-2153) не повлияло на поведения животных, и не было обнаружено межлинейных различий ни по одному из исследуемых параметров в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт» и «принудительное плавание». В связи с этим, эти группы были объединены в одну контрольную группу, которую использовали для сравнения с препаратами (Табл. 0).

В четвертой серии изучали морфологические особенности мозга у мышей, отличающихся по наследственной предрасположенности к каталепсии. Интактным животным линий AKR (n=8), CBA (n=10), ASC (n=11) и M76C (n=10) вводили внутривентриально уретан в дозе 1 г/кг. Морфологию мозга у каждого животного исследовали *in vivo* с помощью магнитно резонансной томографии в течение 30 мин. Животное оставалось живым в течение всего эксперимента и легко выходило из наркоза.

2.4. Поведенческие тесты

Все поведенческие эксперименты проводились между 12.00 и 16.00 часами. Исследовательские группы животных были зашифрованы.

Тест на предрасположенность к щипковой каталепсии.

Выраженность щипковой каталепсии оценивали по ранее опубликованному протоколу (Куликов и др., 1989; Kulikov et al., 1993). Кожу загривка мыши мягко сдавливали двумя пальцами в течение 5 с и затем животное помещали на два карандаша, расположенные

параллельно под углом 45° на расстоянии 5 см один от другого и на высоте 25 см от поверхности стола, так что передние лапки животного находились на 3 см выше задних, и осторожно отпускали. Определяли время замирания, то есть время (с), в течение которого мышь не совершала попыток покинуть карандаши, сменить позу или не делала заметных движений головой или туловищем. Тест на каталепсию считали положительным, если период, в течение которого мышь сохраняла приданное ей неестественное положение, был не менее 20 с. Время теста ограничивали 120 с, после чего животное возвращали в его домашнюю клетку. Каждый из последовательных тестов проводили с интервалом в 1-2 мин. Мышь, демонстрирующая 3 положительных теста из 10, квалифицировалась как каталептик. Выраженность каталепсии оценивали по доле мышей-каталептиков и среднему времени замирания (с) из полученных трех (из 10) тестов с наибольшими значениями времени замирания.

Тест «открытое поле»

Тест «открытое поле» используется у грызунов для оценки тревожности (время, проведенное в центре поля, %), двигательной (пройденный путь, см) и исследовательской (количество вертикальных стоек) активностей в условиях слабого стресса. Его проводили на аппарате с круглой ареной (диаметром 40 см) из полупрозрачного белого матового пластика с пластиковыми стенками высотой 25 см. Арена была ярко подсвечена с помощью двух галогеновых ламп (25 Вт каждая), которые располагались под ареной на расстоянии 40 см. Свет проходил через полупрозрачный белый матовый пластик (инвертированная подсветка). Животное помещали на арену рядом со стенкой, его движения регистрировали в течение 5 минут с помощью цифровой видеокамеры (Panasonic), расположенной на 80 см выше арены и подсоединенной к компьютеру через интерфейс IEEE1394. Видеозапись анализировали кадр за кадром с помощью программно-аппаратного комплекса EthoStudio, разработанного в Институте автоматизации и электрометрии СО РАН (Новосибирск, Россия) и определяли пройденный путь (см) и время, проведенное в центральной части поля (круг диаметром 20 см)). Количество вертикальных стоек фиксировалось экспериментатором (Kulikov et al., 2008b).

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт».

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» используют для исследования реакции животного на стимулы, вызывающие тревогу и страх. (Pellow et al, 1985). В этом тесте экспериментатор регистрировал время, проведенное в открытых рукавах. Данный показатель негативно коррелирует с тревожностью. Тест проводился на приборе, сделанном из серого пластика, состоящего из двух закрытых и двух открытых рукавов (30 x 5 см). Закрытые

рукава имели пластиковые стенки высотой 20 см. Прибор располагался на 60 см выше пола и был тускло освещен с помощью рассеивающего света от галогеновых ламп (25 Вт), которые располагались над прибором на расстоянии метра. Мышь помещали в центр прибора головой в закрытые рукава. Продолжительность теста 5 минут.

Тест “принудительное плавание” (тест Порсолта)

Тест «принудительное плавание» моделирует безвыходное положение для животного и является классическим для определения депрессивноподобного поведения. Все известные клинически эффективные препараты уменьшают время неподвижности в этом тесте (Porsolt et al., 1977). В данном тесте экспериментатор регистрирует время неподвижности в течение, которого животное совершало только слабые движения необходимые для поддержания головы над водой. Тест проводился в пластиковых цилиндрах (15 x 15 x 25 см), которые были наполнены водой (25°C) на 20 см. Цилиндры подсвечивались через полупрозрачный пол. Мышь опускали в воду, в которой она находилась в течение 6 минут. Первые 2 минуты нахождения животного в воде считались адаптационными. Поведение животного начинали регистрировать с третьей минуты с помощью цифровой камеры (Panasonic), расположенной на расстоянии 80 см над ареной и подсоединенной к компьютеру через IEEE1394 интерфейс (Kulikov et al., 2010). Вода менялась после каждого животного.

2.5.Магнитно-резонансная томография

Для исследования морфологических различий в размерах мозга у животных *in vivo* мы использовали горизонтальный томограф с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия).

Для получения T2-взвешенных изображений головного мозга мыши в аксиальной проекции был использован метод спинового эха многосрезового сканирования MSME (Multi Slice Multi Spin Echo) с параметрами TR = 2000 мсек, TE = 16.5 мсек. Чтобы охватить весь мозг, было сделано 9 срезов толщиной 0,5 мм и межсрезовой толщиной 1.5 мм, полем обзора 2 см × 2 см и размером матрицы 256 × 256 точек, продолжительность сканирования 6 мин 40 сек. Для получения T2-взвешенных изображений головного мозга мыши в коронарной и сагиттальных проекциях был использован метод RARE (rapid acquisition with relaxation enhancement) с параметрами импульсной последовательности TE = 11 мсек, TR = 2500 мсек и TE_{eff} = 33 мсек. Чтобы охватить весь мозг, было сделано 9 срезов толщиной 1 мм и межсрезовой толщиной 1.5 мм, полем обзора 2 см × 2 см и размером матрицы 256 × 256 точек, продолжительность сканирования 2 мин 40 сек.

Площадь мозга в каждой проекции оценивалась как количество пикселей, умноженное на размер одного пикселя (мм^2). Размер структур (%) представлен в процентах от общей площади мозга на одном соответствующем срезе.

Срез мозга аксиальной проекции, по которому проводился обсчет, располагался на уровне -2.3 от брегмы. Срез мозга коронарной проекции, по которому проводился обсчет, был четвертым от дорзальной поверхности мозга. Срез мозга сагиттальной проекции, по которому проводился обсчет, располагался на уровне брегмы.

Исследуемые структуры мозга были определены и выделены с помощью программного обеспечения “Интересующий Регион” (ROI) и стандартного атласа мышиноного мозга (Hof, Young, 2000) (Рис.3).

Высокое разрешение магнитно-резонансного изображения четко показывает не только большие структуры мозга, но также позволяет визуализировать маленькие структуры. Разделение мозга на структуры проводилось вручную экспериментатором, который был не знаком с протоколом исследования.

Нами были исследованы структуры, имеющие непосредственное отношение к каталепсии или демонстрирующие нейродегенеративные изменения при различных психических заболеваниях. Были выбраны следующие структуры: передний гиппокамп (сумма правой и левой частей, аксиальный срез), стриатум (сумма правой и левой частей, коронарный срез), средний мозг (сумма правой и левой частей, коронарный срез), промежуточный мозг (включающий в себя таламус и гипоталамус, аксиальный срез), мозолистое тело (сагиттальный срез), гипофиз (сагиттальный срез) и площадь мозга на исследуемом срезе. Размеры каждой из исследованных структур представлены, как процент от общей площади мозга на соответствующем срезе.

Объем мозга животного (мм^3) (кроме мозжечка и гипофиза) рассчитывался по 7 срезам аксиальной проекции толщиной 0,5 мм и межсрезовой толщиной 1.5 мм. Изображения были получены с помощью программы MSME. Площадь мозга на одном срезе рассчитывалась, как количество пикселей помноженных на размер одного пикселя в мм^3 . Площадь между срезами была посчитана, как среднее между площадями соседних срезов. Общий объем мозга был посчитан как сумма площадей мозга на срезах, помноженная на 0.5мм, плюс сумма площадей между срезами, помноженная на 1 мм.

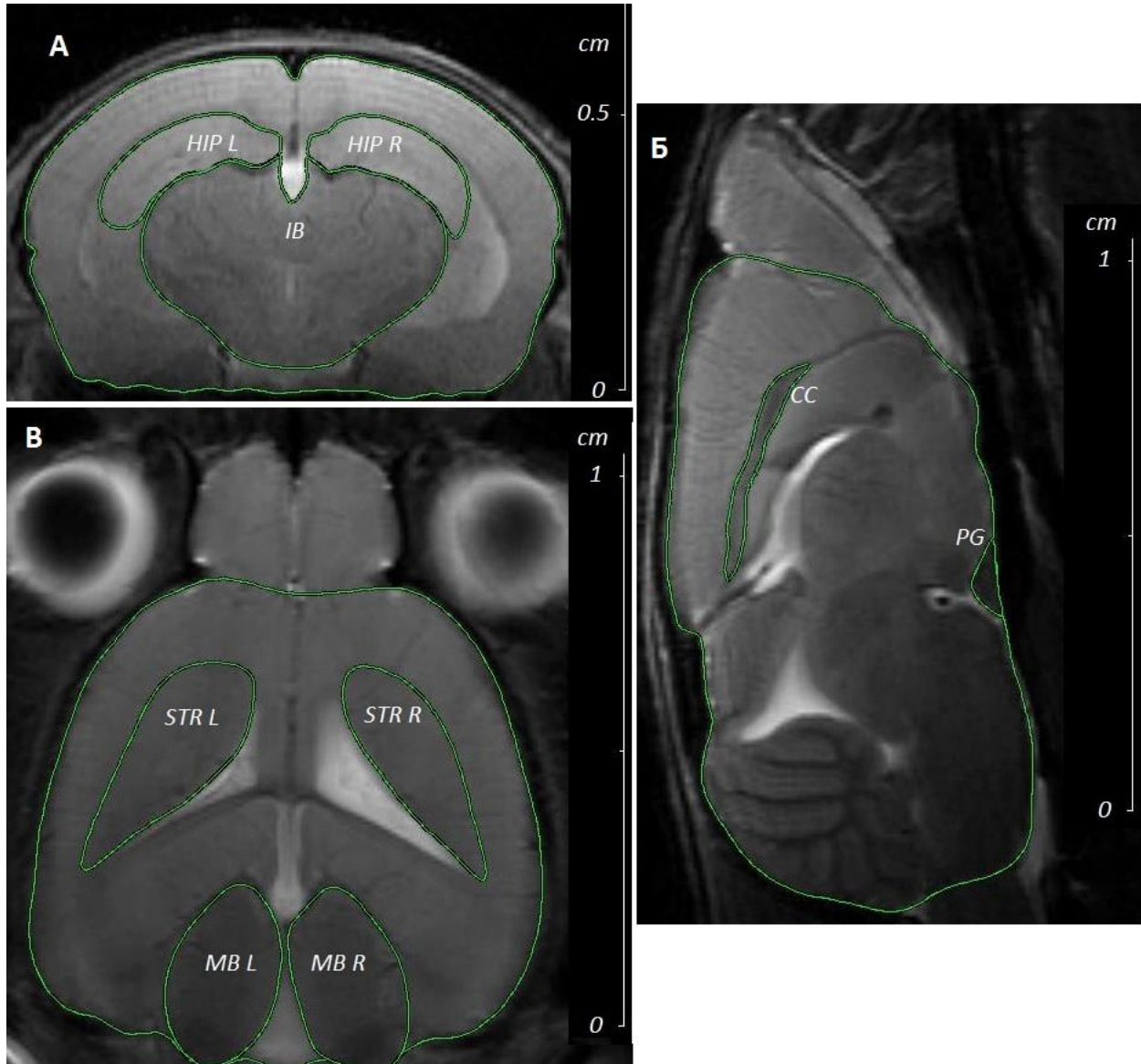


Рис.3. Изображения мозга мыши *in vivo*, полученные с помощью горизонтального томографа с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия). (А) Срез мозга в аксиальной проекции (HIP L/R – передний гиппокамп левая и правая части; IB - промежуточный мозг); (Б) срез мозга в сагиттальной проекции (CC – мозолистое тело; PG – гипофиз); (В) срез мозга в коронарной проекции (STR L/R – стриатум левая и правая части; MB L/R – средний мозг левая и правая части).

2.6. Определение уровня экспрессии генов

Животных декапитировали через 24 ч после последнего введения ТС-2153, вынимали мозг и на холоде выделяли средний мозг, гиппокамп и фронтальную кору, которые затем

помещали в стерильные пробирки «Эппендорф» объемом 1.5 мл, замораживали в жидком азоте и хранили при -70°C до выделения РНК. Выбор структур мозга был обусловлен следующими соображениями. В среднем мозге локализованы тела 5-НТ нейронов, и экспрессируются гены *Tph2* и *Slc6a4*. В коре и гиппокампе локализованы окончания 5-НТ нейронов, а также в гиппокампе наблюдается наибольшая концентрация нейротрофического фактора мозга BDNF и белка CREB, стимулирующего его экспрессию. Кроме того, выбранные структуры вовлечены в механизмы каталепсии, депрессии и действия антидепрессантов.

Выделение РНК

Выделение мРНК проводили по Chomczynski и Sacchi (Chomczynski, Sacchi, 1987) с модификациями (Kulikov et al., 2005; Наumenko, Куликов, 2006b).

Реактивы:

1. Фенол К - смесь, содержащая 4.5 мл фенола (“Реахим”, Москва, Россия), 2.145г гуанидина (“Sigma”, США), 0.113 мл 1М цитрата Na, 0.23 мл 10 % саркозила, 0.9 мл 2N NAc (pH = 3.5 – 4.0), 4.2 мл воды на 10 мл смеси.
2. Хлороформ (“Реахим”, Москва, Россия);
3. Изопропиловый спирт (“Реахим”, Москва, Россия);
4. Этиловый спирт 75% (“Реахим”, Москва, Россия);
5. Вода Milli-Q, обработанная диэтилпиракарбонатом (ДПК; “Sigma”, США; 1 мл/л) и затем автоклавированная через 24 часа, чтобы полностью разрушить ДПК;
6. Буфер для ДНКазы (“Биосан”, Новосибирск, Россия);
7. RNAase free DNAase (“Биосан”, Новосибирск, Россия).

Структуры мозга гомогенизировали в течение 1-2 с в 1 мл фенола К при 11000 об/мин с помощью гомогенизатора Ultra Turax. Гомогенат оставляли на 5 мин при 0°C . Затем добавляли 200 мкл хлороформа, энергично встряхивали 1 мин и оставляли на 15 мин при 0°C . Далее центрифугировали 15 мин при 11000 об/мин на центрифуге Эппендорф mini Spin plus при комнатной температуре. Водную фазу (300 – 400 мкл) переносили в стерильную пробирку объемом 1.5 мл, добавляли равный объем изопропанола и оставляли на 60 мин при -20°C . РНК осаждали при 11000 об/мин в течение 25 мин на центрифуге Эппендорф mini Spin plus при комнатной температуре, а супернатант осторожно декантировали. В пробирку добавляли 1 мл 75% этанола и центрифугировали 10 мин при 11000 об/мин. Спирт декантировали. Осадок РНК просушивали и растворяли в 44 мкл воды, обработанной ДПК.

Для удаления примесей геномной ДНК образцы РНК обрабатывали RNAase free DNAase: в каждую пробу добавляли смесь из 5 мкл буфера для ДНКазы и 1 мкл RNAase free

DNAase. Пробы инкубировали при 37°C в течение 15 мин, а затем – 10 мин при 65°C для разрушения ДНКазы.

Аликвоту 5 мкл раствора РНК разводили до 100 мкл дистиллированной водой и измеряли концентрацию РНК на спектрофотометре Эппендорф BioPhotometer plus. Чистоту определяли по соотношению оптических плотностей образца, измеренных при 260 и 280 нм. Образцы РНК разводили до концентрации 150 мкг/мл водой, обработанной ДПК, и хранили при –65°C.

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

ОТ-ПЦР

Количественную оценку уровня экспрессии мРНК генов *Htr1a*, *Tph2*, *Slc6a4*, *Maoa*, *Bdnf* и *Creb1* проводили по отношению к экспрессии «гена домашнего хозяйства» – РНК-полимеразы 2 (*Polr2a*), который служил внутренним стандартом обратной транскрипции. В качестве внешнего стандарта для определения числа копий мРНК соответствующих генов использовали ДНК мыши известной концентрации (Науменко, Куликов, 2006b).

В работе использовали амплификаторы - Mastercycler personal и «БИС».

Реактивы:

1. Обратная транскриптаза M-MuLV - 500 е.а./мкл («Биосан», Новосибирск, Россия);
2. Taq-полимераза - 5 е.а./мкл («Сибэнзим», Новосибирск, Россия);
3. Набор dNTP (dATP, dCTP, dGTP и dTTP) - 100мМ («Сибэнзим», Новосибирск, Россия), готовили смесь, содержащую по 4 мМ каждого трифосфата;
4. Буфер для Taq-полимеразы ПЦРх10 (KCl – 0.5М («Sigma», США); Трис-НСl («Sigma», США) (pH=9) – 0.1М; TritonX-100 («Sigma», США) - 1%);
5. Рандомный шести нуклеотидный праймер 100 о.е./мл («Биосан», Новосибирск, Россия);
6. Смесь прямого и обратного праймеров для исследуемых генов (Табл.1) с концентрацией по 4 нмоль/мл каждого;
7. Трис HCl («Sigma», США) (pH 8,1) – 1М;
8. Дитиотреитол (ДТТ; «Sigma», США) – 0.1М;
9. MnCl₂ («Sigma», США) – 0.1 М;
10. Стерильный раствор KCl («Sigma», США) – 1М;
11. Вода Milli-Q, обработанная ДПК (ДПК; «Sigma», США; 1 мл/л) и затем

автоклавированная через 24 часа;

12. Растворы ДНК мыши C57Bl/6, которая была выделена из печени, очищена и её оптическая плотность была измерена при 260 и 280 нм. В дальнейшем ДНК была разведена до ряда концентраций от 2.5 до 32 нг/мкл. Поскольку размер генома мыши составляет 2.493×10^9 п.н. и весит, соответственно, около 5 пг, то использованные внешние ДНК-стандарты содержали от 500 до 6400 копий изучаемых генов в 1 мкл, соответственно.

Для проведения обратной транскрипции в стерильной пробирке объемом 500 мкл смешивали 1.2 мкг суммарной РНК (8 мкл) с 8 мкл смеси, содержащей 0.1 мкл случайного праймера (100 о.е./мкл), 2.25 мкл стерильного KCl и 5.65 мкл воды обработанной ДПК. Конечную смесь в объеме 16 мкл денатурировали при 95°C в течение 5 мин, отжигали при 42°C в течение 15 минут и затем добавляли 15 мкл буфера, содержащего 200 е.а. обратной транскриптазы, 0,6 мкл Трис HCl (pH 8.1 – 8.3), 3.75 мкл dNTP, 2.25 мкл ДТТ и 0.3 мкл $MnCl_2$. Смесь (в конечном объеме 31 мкл) инкубировали при 42°C в течение 60 мин. Полученную кДНК хранили при -20°C. Концентрацию примесей геномной ДНК в препаратах кДНК измеряли с помощью ПЦР с праймерами специфичными для 5 и 6 экзонов гена триптофангидроксилазы 1 (*Tph1*) мыши (Табл.1) (Науменко, Куликов, 2006б).

В стерильной пробирке объемом 200 мкл смешивали аликвоту (1 мкл) кДНК с 2.5 мкл смеси специфичных праймеров (Табл.1) и добавляли 16.5 мкл смеси, содержащей 0.2 мкл (1,0 е.а.) Taq-полимеразы, 2 мкл буфера ПЦРх10, 1 мкл dNTP, 0.3 мкл 0.1 М $MgCl_2$ и воду до конечного объема 20 мкл. В отдельные пробирки вместо кДНК добавляли геномную ДНК мыши в количестве 500, 800, 1000, 1500, 1600, 2000, 3000, 3200, 4000 и 6400 копий (для определения экспрессии генов *Htr1a*, *Tph2*, *Slc6a4*, *Maoa*, *Bdnf*, *Creb1* и *Polr2a* во фронтальной коре, гиппокампе и среднем мозге). Амплификацию проводили в режиме hot start. Амплификацию проводили по следующей схеме: 1) денатурация 94°C – 2 мин; 2) денатурация 94°C – 15 с, отжиг при оптимальной температуре для выбранного праймера (Табл.1) – 30 с, элонгация 72°C – 15 с, 29 циклов; 3) дополнительная элонгация 72°C – 2 мин.

Число циклов и концентрации стандартов были подобраны для линейного участка кривой ПЦР. Было показано, что кривые зависимости интенсивности флуоресценции продуктов ПЦР от числа циклов амплификации были линейны в пределах 25–30 циклов для всех исследуемых генов в среднем мозге и для *Htr1a*, *Maoa*, *Bdnf*, *Creb1* и *Polr2a* в коре и гиппокампе. В предварительных экспериментах было показано, что в этих условиях амплификация фрагментов генов *Htr1a*, *Maoa*, *Polr2a*, *Slc6a*, *Tph2* *Bdnf* и *Creb1* не достигала плато при использовании от 0.5 до 3 мкл препарата кДНК. Возрастание флуоресценции

продуктов ПЦР было линейно при использовании 2.5-32 нг геномной ДНК для всех исследуемых генов в среднем мозге и для *Htr1a*, *Maoa*, *Bdnf*, *Creb1* и *Polr2a* в коре и гиппокампе (Рис.4). Таким образом, количественный метод оценки экспрессии позволял определять уровень мРНК в пределах 500-6400 копий для всех исследуемых генов в среднем мозге и для *Htr1a*, *Maoa*, *Bdnf*, *Creb1* и *Polr2a* в коре и гиппокампе.



Рис.4. Кривая зависимости интенсивности флуоресценции от количества геномной ДНК в пробе. Значения геномной ДНК (4,8,16,32 нг) представлены в виде Log по основанию 2. На графике приведены также уравнение кривой и коэффициент аппроксимации.

Праймеры для генов *Htr1a*, *Tph2*, *Tph1*, *Slc6a4*, *Maoa*, *Polr2a*, *Bdnf*, *Creb1* и β были подобраны таким образом, чтобы соответствующие фрагменты геномной ДНК содержались внутри одного экзона (двух - для *Tph1*) (Табл. 1) (Науменко, Куликов, 2006b; Куликов и др., 2011).

Электрофорез

Реактивы: 1) этидиум бромид-1% (“Медиген”, Новосибирск, Россия); 2) агароза (“Sigma”); 3) буфер для нанесения (0.35% оранжевого G в 32 % сахарозе); 4) буфер ТБЕх10, в 1 литр буфера входит: 108 г триса, 54 г борной кислоты, 20 мл 1М ЭДТА, дистиллированная вода до 1 л.; 5) буфер ТБЕх0.5, приготовленный разбавлением ТБЕх10 в 20 раз дистиллированной водой.

После проведения ПЦР в пробирки добавляли по 5 мкл буфера для нанесения, перемешивали и затем наносили по 20 мкл в лунку 1.5% агарозного геля (1.5 г агарозы и 4 мкл бромистого этидия на 100 мл ТБЕх0.5). Первоначально наносились пробы, а затем по возрастанию внешние стандарты. Электрофорез проводили в ТБЕх0.5 при напряжении 200 V в течение 15 мин в аппарате для горизонтального электрофореза (“Медиген”, Новосибирск, Россия). Гель фотографировали фотокамерой Olympus в ультрафиолетовом свете (300 нм) на трансиллюминаторе и изображение полос продуктов ПЦР заносили в компьютер. Анализ

изображения проводили с помощью программы Scion Image (Scion Corporation, США; <http://www.scioncorp.com>). Интенсивность флюоресценции полос проб калибровали по кривой, построенной на основании интенсивности флюоресценции полос внешнего стандарта, и рассчитывали число копий мРНК генов в одном мкл раствора кДНК. Уровень экспрессии генов *Htr1a*, *Tph2*, *Slc6a4*, *Maoa*, *Bdnf* и *Creb1* нормировали на 100 копий мРНК *Polr2* (Рис.5).

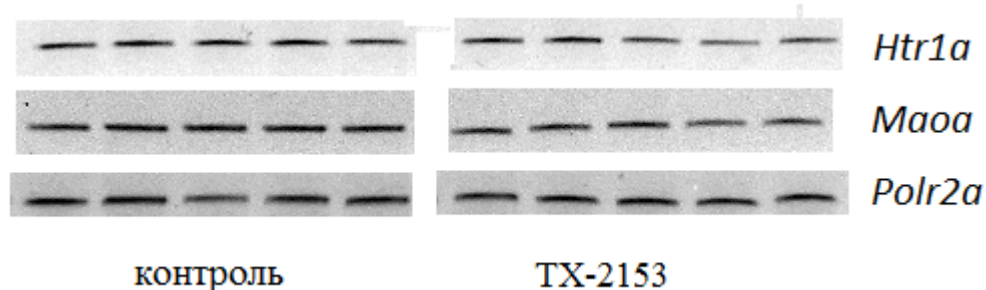


Рис.5. Негативы фотографий агарозного геля с мРНК исследуемых генов *Htr1a*, *Maoa* и мРНК гена домашнего хозяйства *Polr2a*.

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

Ген	Нуклеотидные последовательности праймеров	Т отжига, °С	Длина ампликона, п.н.
β	F: 5'-CGGAACCGCTCATTGCC-3' R: 5'-ACCCACACTGTGCCCATCTA-3'	61	285
<i>Tph1</i>	F: 5'-GCTTCAAAGACAATGTCTATCGTAGAAG-3' R: 5'-GCGTGGGTCTGGGTAGAGTTTGTTC-3'	60	164 (без интрона) 315 (с интроном)
<i>Tph2</i>	F: 5'-CATTCCTCGCACAATTCCAGTCG-3' R: 5'-AGTCTACATCCATCCCAACTGCTG-3'	61	239
<i>Htr1a</i>	F: 5'-GACTGCCACCCTCTGCCCTATATC-3' R: 5'-TCAGCAAGGCAAACAATTCCAG-3'	62	188
<i>Slc6a4</i>	F: 5'-AAGCCCCACCTTGACTCCTCC-3' R: 5'-CTCCTTCCTCTCCTCACATATCC-3'	57	198
<i>Maoa</i>	F: 5'-ATGAGGATGTTAAATGGGTAGATGTTGGT-3' R: 5'-CTTGACATATTGAACTAGACGCTC-3'	61	138
<i>Bdnf</i>	F: 5'-TAGCAAAAAGAGAATTGGCTG-3' R: 5'-TTTCAGGTCATGGATATGTCC-3'	59	255
<i>Creb1</i>	F: 5'-CTGCCTCAGGCGATGTACAA-3' R: 5'-TTCATTAGACGGACCTCTCTCTTC-3'	63	145
<i>Polr2a</i>	F: 5'-GTTGTCTGGGCAGCAGAATGTAG-3' R: 5'-TCAATGAGACCTTCTCGTCCCTCC-3'	63	188

2.7. Статистическая обработка

Число животных-каталептиков представляли как процентное отношение от общего числа животных в каждой экспериментальной группе и сравнивали с помощью двухстороннего точного критерия Фишера. Общий объем мозга (мм^3) и площади мозга (мм^2) представлены как $M \pm m$ и проанализированы с помощью ковариационного анализа ANOVA, где ковариантой выступала масса животных. Значения, полученные при сравнении поведенческих эффектов препаратов (ТС-2153, флуоксетина и имипрамина) у мышей разных линий в тестах «открытое поле», «принудительное плавание» и «приподнятый крестообразный лабиринт», представлены как $M \pm m$ и проанализированы с помощью двухфакторного анализа ANOVA. Все остальные полученные результаты представлены как $M \pm m$ и проанализированы с помощью однофакторного анализа ANOVA. Для сравнения различий между отдельными экспериментальными группами был использован post-hoc LSD тест Фишера. Предварительно данные были проверены на принадлежность крайних вариант к совокупности, выбраковка осуществлялась по критерию Диксона (Закс, 1976).

Глава 3. Результаты

3.1. Морфологические особенности мозга мышей, генетически предрасположенных к патологическому поведению.

Морфологические особенности мозга были изучены на линиях мышей, отличающихся по предрасположенности к каталепсии. Животные линии AKR не проявляют шипковую каталепсию, в то время как 50% особей линий CBA и M76C и 75% мышей линии ASC являются каталептиками. Мыши линии ASC так же отличаются от других линий депрессивноподобной формой поведения. С помощью магнитно резонансной компьютерной томографии было проведено исследование размеров мозга у мышей этих линий. Существенных различий по объему ($F_{3,33}=2.13$, $p>0.05$) и площади мозга (аксиальный, коронарный и сагиттальный срезы) ($F_{3,33} < 1$) выявлено не было (Табл.2).

Таблица 2. Размеры мозга мышей, характеризующиеся различной генетической предрасположенностью к каталепсии: каталептиков - CBA, ASC и M76C; не каталептиков – AKR.

Размер мозга		AKR	ASC	CBA	M76C
Объем мозга, мм ³		325.7±6.69	329.0±3.85	336.0±3.82	327.3±5.15
Площадь мозга, мм ² (срезы мозга)	аксиальный	50.2±0.54	49.3±0.42	49.2±0.50	49.6±0.68
	коронарный	68.3±0.29	64.6±0.44	66.1±0.77	65.7±0.40
	сагиттальный	58.0±0.27	58.7±0.68	59.7±0.49	58.5±0.57

Данные представлены, как $M \pm t$. В каждой группе по 8-11 животных ($n=8-11$). Объем мозга (без мозжечка и гипофиза), получен на основании 7 срезов аксиальной проекции путем суммирования площадей мозга на каждом срезе и пространства между этими срезами (мм³). Площадь мозга в каждой проекции оценивалась как количество пикселей, умноженное на размер одного пикселя (мм²). Значения объема мозга и площадей оценивали при помощи анализа по ковариации, где ковариантой была масса животного.

В то же время, у этих животных были обнаружены различия по размерам некоторых структур мозга: гипофиза ($F_{3,34} = 9.07$, $p<0.001$), стриатума ($F_{3,34} = 4.59$, $p<0.01$), промежуточного мозга ($F_{3,34} = 4.88$, $p<0.01$) и мозолистого тела (corpus callosum) ($F_{3,33} = 8.21$, $p<0.001$). Размер гипофиза был достоверно меньше у животных каталептических линий по сравнению с не каталептической линией AKR. Среди изученных линий выделяется «депрессивная» линия ASC. Мыши линии ASC характеризуются самым маленьким гипофизом, стриатумом, мозолистым телом и промежуточным мозгом. Между тем, не было

обнаружено различий в размерах среднего мозга ($F_{3,33} = 0.8$) и гиппокампа ($F_{3,34} = 2.823$, $p > 0.05$) у исследованных групп. (Рис. 6).

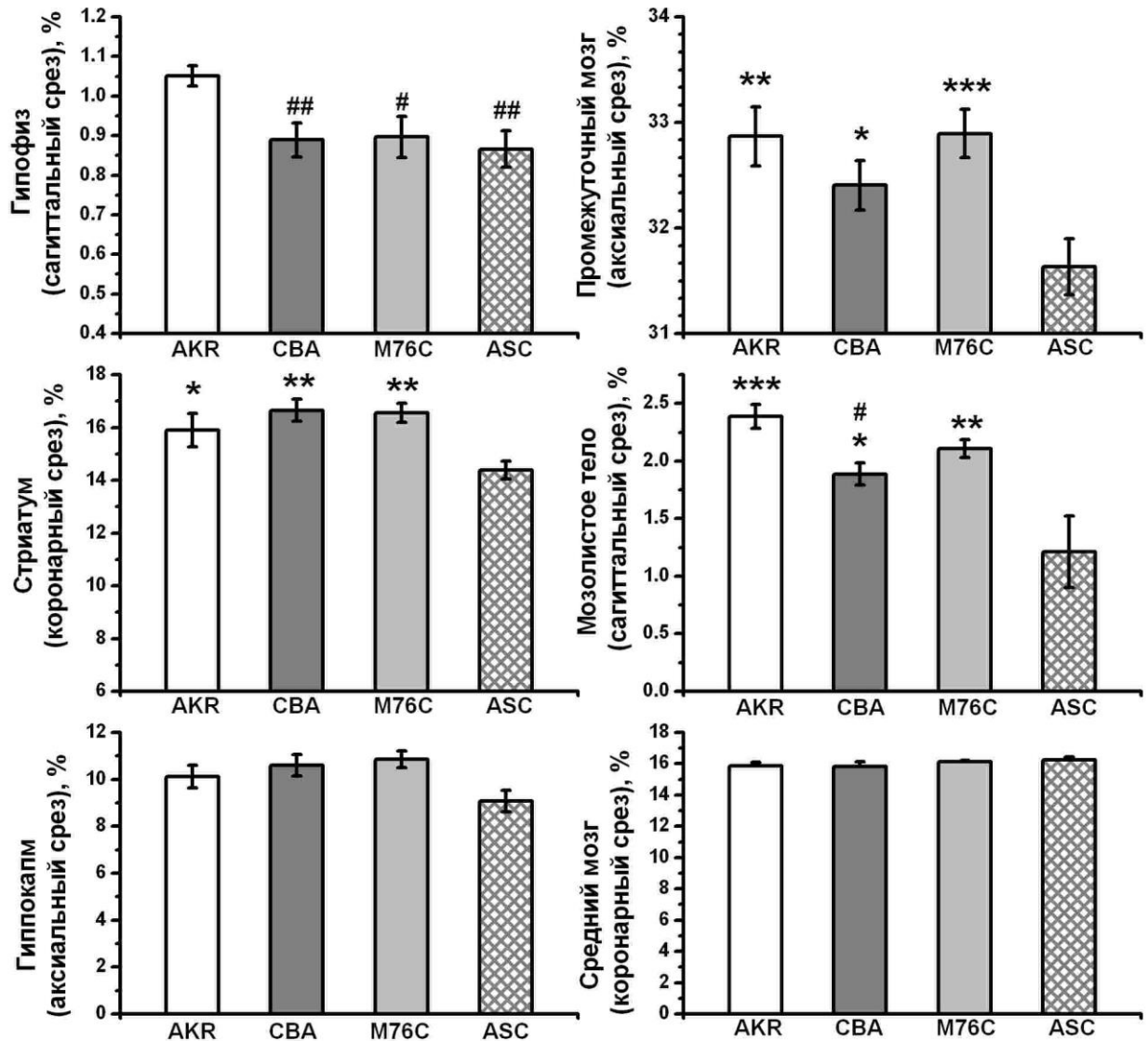


Рис.6. Размеры структур мозга у мышей, с генетической предрасположенностью к каталепсии: каталептиков - CBA, ASC и M76C; не каталептиков – AKR. Размеры структур представлены в процентах от общей площади мозга на соответствующем срезе.

$n=8-11$; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ по сравнению с AKR; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ по сравнению с ASC.

3.2. Влияние ТС-2153 на поведение

3.2.1. Каталепсия

Острое введение ТС-2153 дозозависимо подавляло выраженность каталепсии у мышей линии ASC (Рис.7). Было обнаружено достоверное уменьшение процента каталептиков по сравнению с контрольной группой при введении препарата в дозах 20 мг/кг

($p < 0.01$) и 40 мг/кг ($p < 0.001$). Продолжительность катаlepsии также уменьшилась по сравнению с контролем ($F_{3,69} = 4.10$, $p < 0.001$) при использовании доз 20 мг/кг ($p < 0.05$) и 40 мг/кг ($p < 0.001$). Доза 10 мг/кг существенного влияния не оказывала ($p > 0.05$).

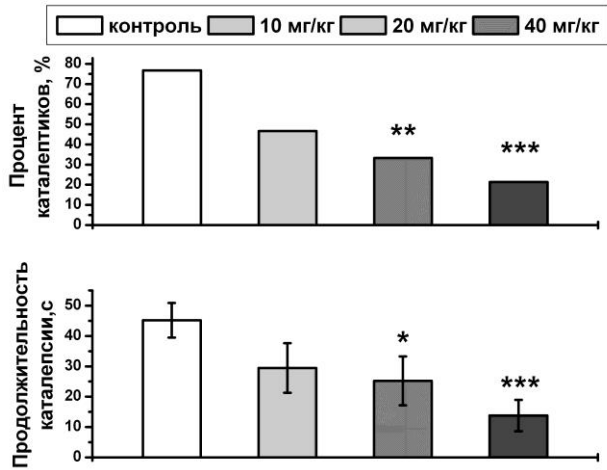


Рис.7. Изменение процента каталептиков и продолжительности катаlepsии у мышей линии ASC после острого введения различных доз ТС-2153 (10, 20, 40 мг/кг) и растворителя (контроль).

$n = 14-29$; * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ относительно контрольной группы.

Хроническое введение ТС-2153 в дозе 10 мг/кг в течение 12 дней мышам линии ASC достоверно снижало процент каталептиков ($p < 0.05$) в опытной группе (33.3%) по сравнению с контрольной группой (80%), а также достоверно уменьшало продолжительность катаlepsии ($F_{1,28} = 6.60$, $p < 0.05$) по сравнению с контролем (Рис.8).

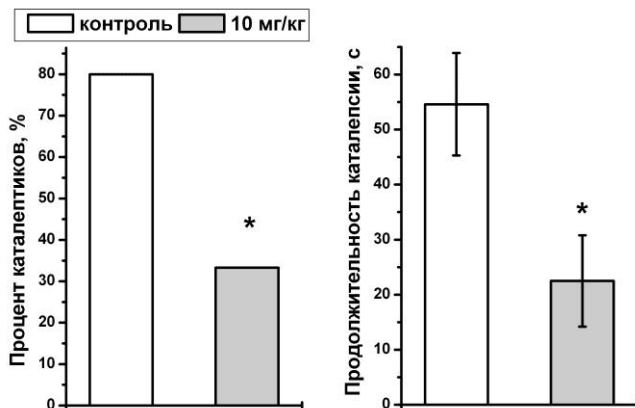


Рис.8. Изменение процента каталептиков и продолжительности катаlepsии у мышей линии ASC после хронического введения ТС-2153 в дозе 10 мг/кг по сравнению с введением растворителя (контроль).

$n = 14-30$; * $p < 0.05$.

Таким образом, ТС-2153 оказывал антикаталептический эффект как при остром, так и при хроническом введении.

3.2.2. Депрессивноподобное поведение

Однократное введение ТС-2153 в дозе 10 мг/кг достоверно уменьшало время неподвижности у мышей линии ASC в тесте «принудительное плавание» ($F_{1,28} = 5.80$, $p < 0.05$) (Рис.9). Следовательно, препарат ТС-2153 при остром введении оказывал антидепрессантный эффект.

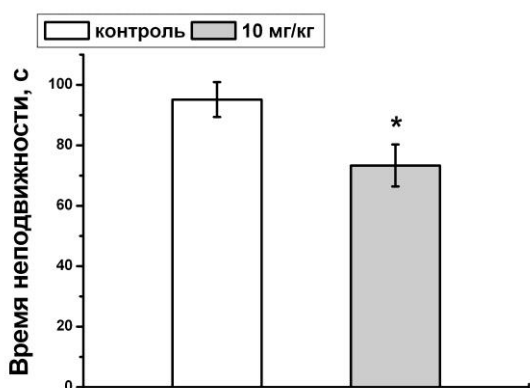


Рис.9. Влияние ТС-2153 на время неподвижности в тесте «принудительное плавание» у мышей линии ASC.

$n=15$; * $p < 0.05$.

3.2.3. Двигательная активность, исследовательская активность и тревожность.

Острое введение ТС-2153 (10, 20 и 40 мг/кг) не оказало влияния на пройденный путь (двигательная активность) ($F_{3,70} = 2.73$, $p > 0.05$) и на количество вертикальных стоек (исследовательская активность) ($F_{3,70} = 1.51$, $p > 0.05$) в тесте «открытое поле». Однако было обнаружено достоверное уменьшение времени, проведенного в центре, у опытных мышей по сравнению с контролем ($F_{3,70} = 3.04$, $p < 0.05$), что расценивается, как повышенная тревожность. Значительное снижение времени, проведенного в центре, было обнаружено у мышей, получавших ТС-2153 в дозе 40 мг/кг, по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$) (Табл.3).

Таблица 3. Влияние острого введения ТС-2153 (10, 20, 40 мг/кг) на двигательную, исследовательскую активности и тревожность в тесте «открытое поле» мышей линии ASC.

Исследуемые параметры	контроль	10 мг/кг	20 мг/кг	40 мг/кг	F	p
Путь, см	785.7±37.89	911.2±48.84	842.5±70.89	679.0±65.36	$F_{3,70} = 2.73$	$p > 0.05$
Число вертикальных стоек	13.8±1.98	12.7±2.02	18.0±3.36	10.2±1.98	$F_{3,70} = 1.51$	$p > 0.05$
Время, проведенное в центре поля, с	14.2±1.81	17.2±1.61	11.1±1.58	8.3±2.50 *	$F_{3,69} = 3.04$	$p < 0.05$

$n=14-30$; * $p < 0.05$ относительно контрольной группы.

В то же время, в тесте «открытое поле» хроническое введение (в течение 10 дней) ТС-2153 (10 мг/кг) не повлияло на пройденный путь (двигательная активность) ($F_{1,28} = 3.45$, $p > 0.05$), число вертикальных стоек (исследовательская активность) ($F_{1,28} = 1.76$, $p > 0.05$) и время, проведенное в центре поля (тревожность) ($F_{1,28} = 2.22$, $p > 0.05$), по сравнению с этими показателями у контрольной группы (Табл.4).

Таблица 4. Влияние хронического введения ТС-2153 (10 мг/кг) на двигательную, исследовательскую активности и тревожность в тесте «открытое поле» у мышей линии ASC.

Исследуемые параметры	контроль	ТС-2153	F	p
Путь, см	653.5 ± 58.18	796.3 ± 50.13	$F_{1,28} = 3.45$	$p > 0.05$
Число вертикальных стоек	4.6 ± 0.94	6.9 ± 1.48	$F_{1,28} = 2.22$	$p > 0.05$
Время, проведенное в центре поля, с	17.8 ± 4.68	9.8 ± 2.51	$F_{1,28} = 1.76$	$p > 0.05$

$n=15$.

Острое и хроническое введения ТС-2153 (10 мг/кг) не влияли на время, проведенное в открытых рукавах, (тревожность) в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (Табл.5).

Таблица 5. Влияние острого и хронического введений ТС-2153 (10 мг/кг) на поведение мышей линии ASC в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

Время в открытых рукавах	Контроль	ТС-2153	Значимость
Острое введение	31.5 ± 8.99	35.8 ± 7.88	$F_{1,25} = 0.12$
Хроническое введение (10 дней)	2.4 ± 1.69	3.1 ± 1.95	$F_{1,27} = 0.07$

$n=13-15$.

Таким образом, в используемых тестах не было обнаружено изменений в двигательной, исследовательской активностям, а также в выраженности тревожности у мышей ASC при введении ТС-2153 в дозах 10 и 20 мг/кг. Однако доза 40 мг/кг оказала анксиогенное действие на мышей в тесте «открытое поле».

3.2.4. Сравнение поведенческих эффектов препарата ТС-2153 и классических антидепрессантов, ингибиторов обратного захвата серотонина, флуоксетина и имипрамина.

При сравнении поведения животных после введения физиологического раствора (контрольный раствор для флуоксетина и имипрамина) или 17% ДМСО (контрольный раствор для ТС-2153) разницы не было обнаружено ни по одному из исследуемых параметров в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт» и «принудительное плавание». Это позволило объединить животных групп контрольных в одну для каждой линии (Табл. 6).

Таблица 6. Влияние введения животным физиологического раствора или 17% ДМСО на поведение мышей линий АКР, СВА и М76С в тестах «принудительное плавание» (ПП), «открытое поле» (ОП) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ).

Тест	Параметр	Линия	ДМСО	Физ. раствор	F	p
ПП	Время неподвижности	АКР	97.65±7.13	98.58±7.66	$F_{1,19}<1$	
		СВА	86.55 ±6.62	88.88±7.91	$F_{1,14}=0.05$	
		М76С	100.15±7.94	94.32±6.51	$F_{1,20}=0.22$	
ОП	Пройденный путь, см	АКР	979.33±58.02	1128.56±111.78	$F_{1,19}=1.62$	p>0.05
		СВА	982.50±82.15	964.83±80.42	$F_{1,14}=0.02$	
		М76С	821.78±70.79	803.88±132.16	$F_{1,19}=0.02$	
	Время в центре поля,%	АКР	8.85±0.69	12.51±1.88	$F_{1,16}=4.33$	p>0.05
		СВА	15.81±2.08	20.24±4.85	$F_{1,14}=0.94$	
		М76С	5.39±1.41	3.29±0.92	$F_{1,19}=1.17$	p>0.05
	Число вертикальных стоек	АКР	36.83 ±4.05	37.33±5.70	$F_{1,19}<1$	
		СВА	24.40±4.68	22.00±4.68	$F_{1,14}=0.11$	
		М76С	16.69±2.46	19.63±3.78	$F_{1,19}=0.46$	
ПКЛ	Время в открытых рукавах, с	АКР	27.43±4.53	29.25±8.72	$F_{1,16}=0.04$	
		СВА	24.57±5.72	16.10±3.92	$F_{1,16}=1.34$	p>0.05
		М76С	13.29±3.23	11.35±5.39	$F_{1,25}=0.10$	

n=15-26.

Острое введение ТС-2153, флуоксетина и имипрамина в дозе 20 мг/кг оказало значительное влияние на поведение животных линий АКР, СВА, М76С в тесте «принудительное плавание». Были обнаружены достоверные различия во времени неподвижности в тесте по сравнению с контролем ($F_{3,159} = 11.16$, $p < 0.001$), в то же время, не было обнаружено различия между линиями ($F_{2,159} = 0.98$) и во взаимодействии линии и препаратов ($F_{6,159} = 1.12$, $p > 0.05$). ТС-2153 уменьшал время неподвижности у мышей линий АКР ($p < 0.05$) и М76С ($p < 0.05$). Флуоксетин уменьшал время неподвижности у мышей всех исследуемых линий - АКР ($p < 0.01$), СВА ($p < 0.05$), М76С ($p < 0.01$). Имипрамин подавлял время неподвижности только у одной линии М76С ($p < 0.001$) (Рис.10).

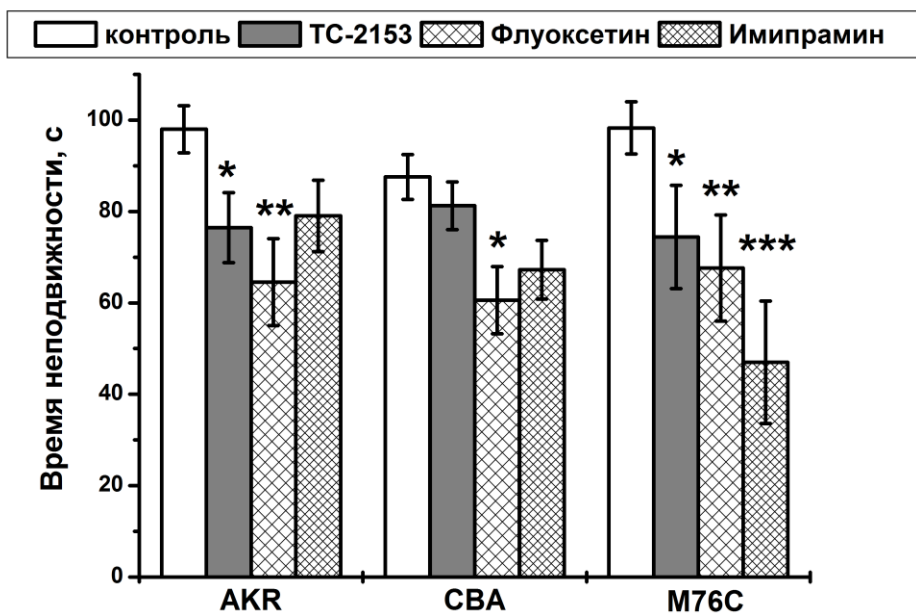


Рис.10. Влияние острого введения ТС-2153, имипрамина и флуоксетина в дозе 20 мг/кг на время неподвижности в тесте «принудительное плавание».

$n=7-22$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ по сравнению с контрольными животными этой же линии.

Острое введение препаратов ТС-2153, имипрамина и флуоксетина в дозе 20 мг/кг оказало влияние на пройденный путь (двигательная активность), количество вертикальных стоек (исследовательская активность) и на время, проведенное в центре поля (тревожность), в тесте «открытое поле».

Пройденный животным путь в тесте «открытое поле» (двигательная активность) достоверно зависел от генотипа ($F_{2,166} = 26.80$, $p < 0.001$), препарата ($F_{3,166} = 6.63$, $p < 0.001$) и взаимодействия генотипа и препарата ($F_{6,166} = 3.16$, $p < 0.05$). Животные контрольной группы линии М76С достоверно отличались от животных контрольной группы линии АКР по

пройденному пути ($p < 0.05$). ТС-2153 достоверно увеличивал пройденный путь у мышей не каталептической линии АКР ($p < 0.01$), но не влиял на животных других линий. Флуоксетин подавлял пройденный путь у животных каталептической линии СВА ($p < 0.001$), но не оказывал влияния на оставшиеся линии. Имипрамин достоверно понижал пройденный путь только у мышей линии М76С ($p < 0.001$) (Рис.11).

Было обнаружено достоверное влияние генотипа ($F_{2,166} = 47.32$, $p < 0.001$) и препаратов ($F_{3,166} = 4.73$, $p < 0.01$), но не взаимодействия генотипа и препарата ($F_{6,166} = 1.21$, $p > 0.05$) на количество вертикальных стоек у животных (исследовательская активность). ТС-2153 не оказывали влияния ни на одну из исследованных линий, однако флуоксетин подавлял количество вертикальных стоек у мышей линии АКР ($p < 0.05$) и СВА ($p < 0.05$), но не М76С, в то же время имипрамин уменьшал этот показатель у мышей линии М76С ($p < 0.05$) (Рис.11).

Было показано достоверное влияние генотипа ($F_{2,166} = 33.73$, $p < 0.001$), а также влияние взаимодействия генотипа и препарата ($F_{6,166} = 2.37$, $p < 0.05$), но не препарата на время, проведенное животным в центре поля (тревожность) ($F_{3,166} = 2.08$, $p > 0.05$) (Рис.11).

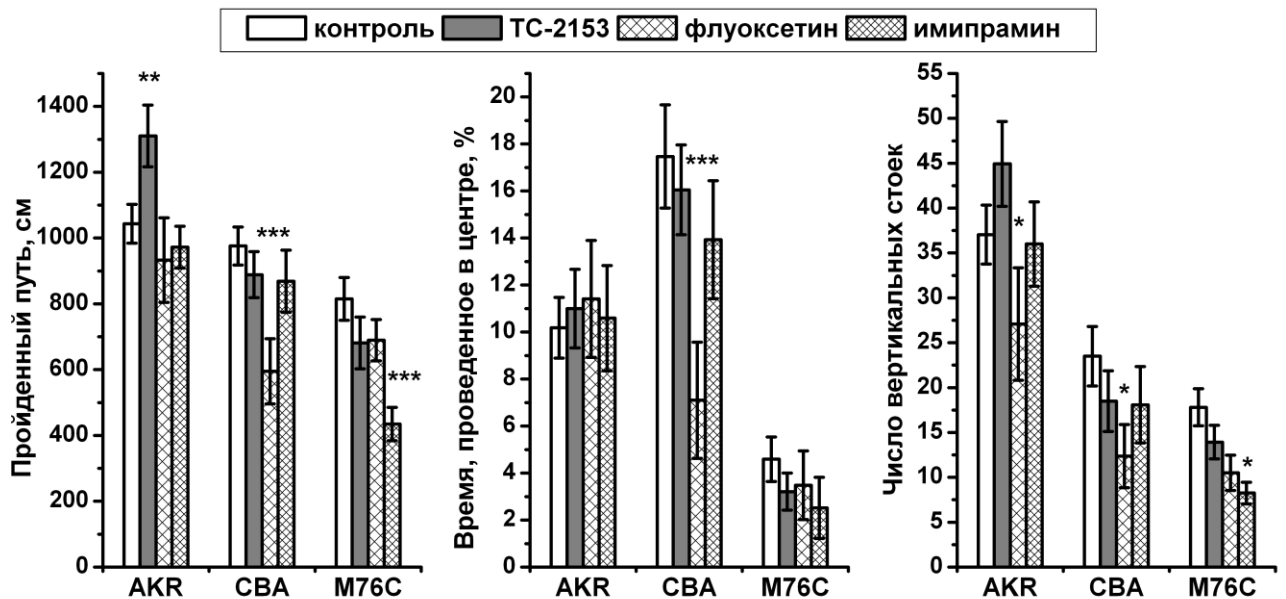


Рис.11. Влияние острого введения ТС-2153, имипрамина и флуоксетина в дозе 20 мг/кг на пройденный путь, количество вертикальных стоек и на время, проведенное в центре, в тесте «открытое поле».

$n=12-21$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ по сравнению с контрольными животными этой же линии.

Острое введение ТС-2153, имипрамина и флуоксетина в дозе 20 мг/кг оказало влияние на время, проведенное в открытых рукавах (тревожность), в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

Было обнаружено, что время, проведённое в открытых рукавах, достоверно зависело от генотипа ($F_{2,167} = 5.87$, $p < 0.01$), а также препаратов ($F_{3,167} = 4.25$, $p < 0.01$), но не было обнаружено влияния взаимодействия генотипа и препарата ($F_{6,167} = 1.81$, $p > 0.05$) на этот показатель. ТС-2153 достоверно увеличивал время, проведенное в открытых рукавах, у мышей некаталептической линии АКР ($p < 0.05$), тогда как флуоксетин уменьшал данный показатель у этой линии мышей ($p < 0.05$). В то же время не было обнаружено влияния препаратов на этого показатель у каталептических линий СВА и М76С (Рис.12).

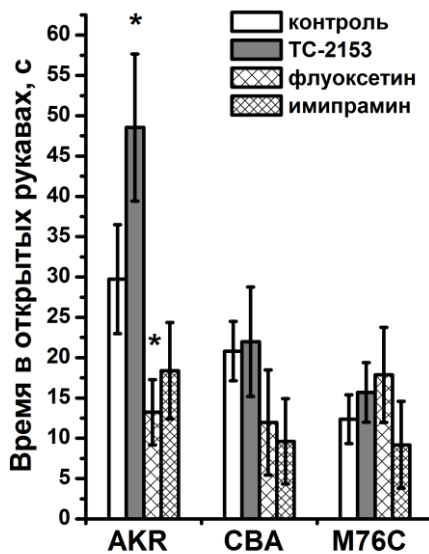


Рис.12. Влияние острого введения ТС-2153, имипрамина и флуоксетина в дозе 20 мг/кг на время, проведенное в открытых рукавах, в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

$n=7-26$; * $p < 0.05$ по сравнению с контрольными животными этой же линии.

Таким образом, было обнаружено существенное влияние генотипа на чувствительность к классическим антидепрессантам и ТС-2153. Наиболее чувствительной линией из трех исследованных в данном эксперименте оказалась конгенная линия М76С. Флуоксетин оказывал антидепрессантный эффект на все линии, однако имел ряд негативных побочных эффектов, таких как: снижение двигательной и исследовательской активности («открытое поле»), повышение тревожности («открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт»). Имипрамин оказывал антидепрессантный эффект только на животных линии, но при этом подавлял двигательную активность и исследовательскую активность у М76С в тесте «открытое поле». Препарат ТС-2153 оказывал антидепрессантный эффект на линии АКР и М76С и, в отличие от классических антидепрессантов не проявлял негативных побочных эффектов на поведение. Было обнаружено, что ТС-2153 увеличивает двигательную активность («открытое поле») и снижает тревожность («приподнятый крестообразный лабиринт») у мышей АКР.

3.3 .Исследование механизма действия ТС-2153.

3.3.1. Участие серотониновой системы в механизме действия препарата ТС-2153

Для изучения участия серотониновой системы в механизме действия ТС-2153 мы исследовали экспрессию генов, кодирующих ключевые белки этой системы.

Главным ферментом синтеза серотонина является фермент ТПГ-2, который кодируется геном *Tph2*. Этот ген экспрессируется только в среднем мозге, где локализованы тела серотониновых нейронов. Нами было показано, что хроническое введение ТС-2153 (10 мг/кг) не повлияло на экспрессию гена *Tph2* в среднем мозге ($F_{1,16} = 1.69$, $p > 0.05$) (Рис.13).

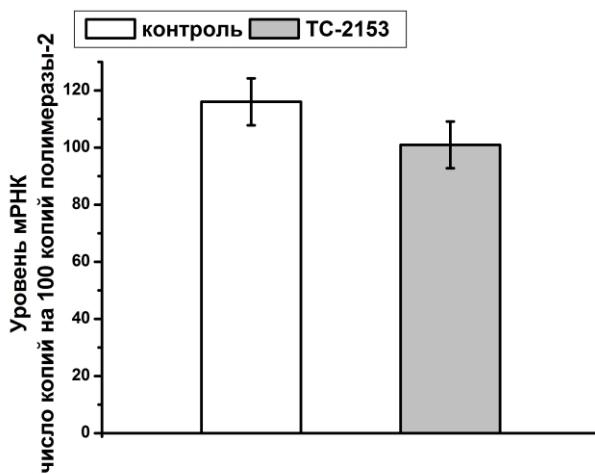


Рис.13. Влияние хронического введения ТС-2153 на уровень мРНК гена *Tph2* в среднем мозге. Уровень мРНК гена *Tph2* в исследуемых структурах представлен как количество копий на 100 копий мРНК гена *Polr2a*.

$n=8-9$.

Серотонин разрушается белком МАОА, этот белок кодируется геном *Maoa*. Хроническое введение ТС-2153 (10 мг/кг) не повлияло на экспрессию гена *Maoa* в коре ($F_{1,16} = 1.07$, $p > 0.05$) и гиппокампе ($F_{1,16} = 2.68$, $p > 0.05$). Однако в среднем мозге уровень мРНК гена *Maoa* у мышей, получавших ТС-2153, был достоверно снижен по сравнению с контрольной группой ($F_{1,16} = 19.5$, $p < 0.001$) (Рис.14).

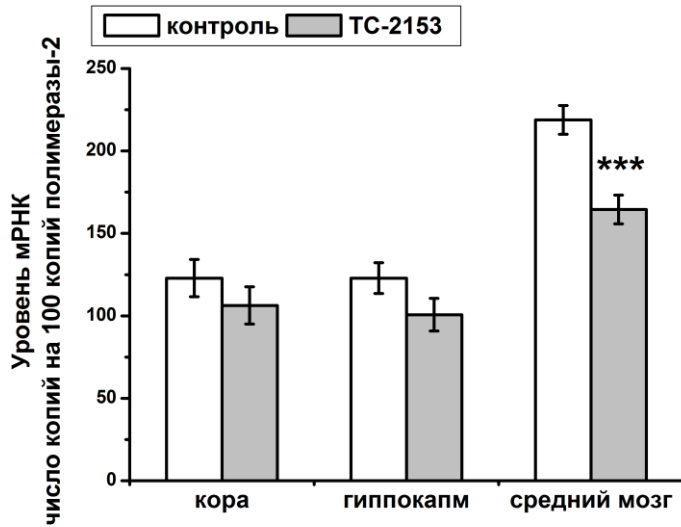


Рис.14. Влияние хронического введения ТС-2153 (10 мг/кг) на уровень мРНК гена *Maoa* во фронтальной коре, гиппокампе и среднем мозге. Уровень мРНК гена *Maoa* в исследуемых структурах представлен как количество копий на 100 копий мРНК гена *Polr2a*.

$n=8-9$; *** $p<0.001$ относительно контрольной группы.

Из синаптической щели серотонин удаляется с помощью белка обратного захвата - транспортера, который кодируется геном *Slc6a4*. Этот ген экспрессируется только в телах серотониновых нейронов. Хроническое введение ТС-2153 (10 мг/кг) не повлияло на экспрессию гена *Slc6a4* 5-НТ-транспортера в среднем мозге ($F_{1,16} = 0.76$) (Рис.15).

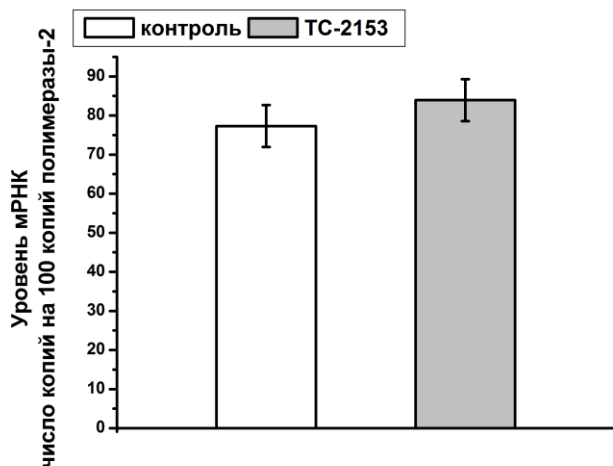


Рис.15. Влияние хронического введения ТС-2153 (10мг/кг) на уровень мРНК гена *Slc6a4* в среднем мозге. Уровень мРНК гена *Slc6a4* в исследуемых структурах представлен как количество копий на 100 копий мРНК гена *Polr2a*.

$n=8-9$.

Одним из ключевых рецепторов серотонина является 5-HT_{1A}-рецептор, который может быть как пре-, так и постсинаптическим. Он кодируется геном *Htr1a*. Хроническое введение ТС-2153 (10 мг/кг) в течение 16 дней не повлияло на экспрессию гена *Htr1a* в коре ($F_{1,16} = 0.11$) и гиппокампе ($F_{1,16} = 0.003$), где локализованы постсинаптические рецепторы. В то же время, в среднем мозге, где располагаются пресинаптические 5-HT_{1A} рецепторы, было обнаружено достоверное снижение уровня мРНК гена *Htr1a* у животных, получавших ТС-2153, по сравнению с контрольной группой ($F_{1,16} = 17.6$, $p < 0.001$) (Рис.16).

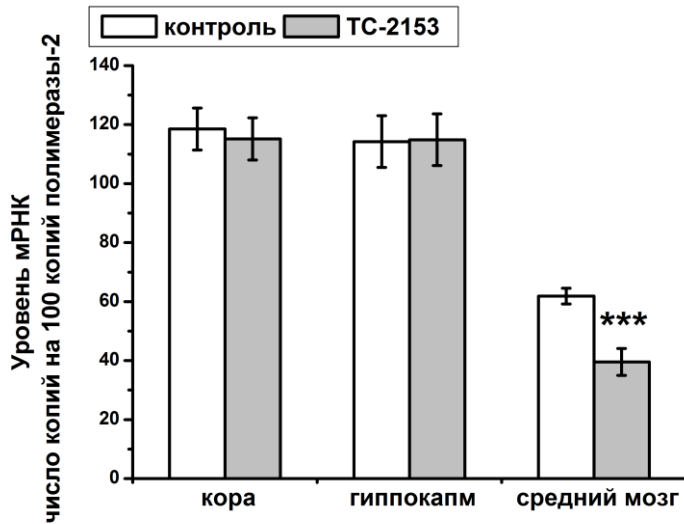


Рис.16. Влияние хронического введения ТС-2153 (10 мг/кг) на уровень мРНК гена *Htr1a* во фронтальной коре, гиппокампе и среднем мозге. Уровень мРНК гена *Htr1a* в исследуемых структурах представлен как количество копий на 100 копий мРНК гена *Polr2a*. $n=8-9$; *** $p < 0.001$ относительно контрольной группы.

Таким образом, при исследовании влияния ТС-2153 на серотониновую систему мозга было обнаружено уменьшение экспрессии генов *Htr1a* и *Maoa* в среднем мозге, где локализованы тела серотониновых нейронов, но не в коре и гиппокампе. В то же время изменений в экспрессии генов *Tph2* и *Slc6a4* в среднем мозге обнаружено не было.

3.3.2. Влияние ТС-2153 на экспрессию гена нейротрофического фактора мозга BDNF и гена транскрипционного фактора CREB

Для исследования участия нейротрофического фактора мозга BDNF и его транскрипционного фактора CREB в механизме действия препарата ТС-2153 мы исследовали экспрессию генов этих белков.

Нейротрофический фактор мозга BDNF кодируется геном *Bdnf*. Хроническое введение ТС-2153 (10 мг/кг) привело к увеличению экспрессии гена *Bdnf* в гиппокампе ($F_{1,18}$

= 4.81, $p < 0.05$), но не в других исследованных структурах: коре ($F_{1,16} = 0.43$) или среднем мозге ($F_{1,18} = 0.2$) (Рис.17).

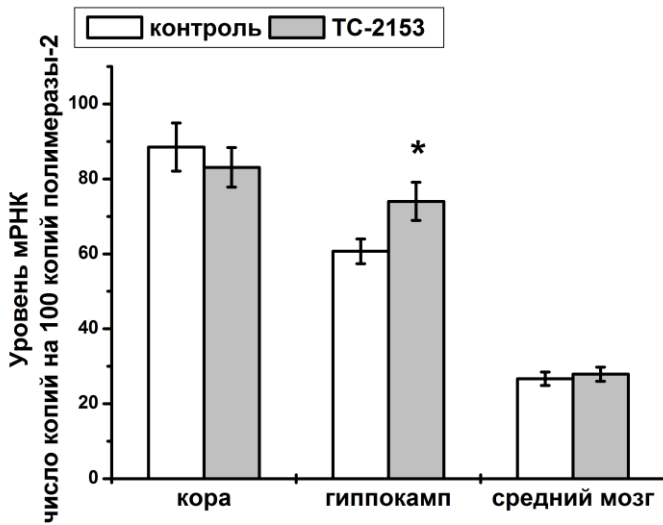


Рис.17. Влияние хронического введения ТС-2153 (10 мг/кг) на уровень мРНК гена *Bdnf* во фронтальной коре, гиппокампе и среднем мозге. Уровень мРНК гена *Bdnf* в исследуемых структурах представлен как количество копий на 100 копий мРНК гена *Polr2a*.

$n=8-9$; * $p < 0.05$ относительно контрольной группы.

Транскрипционный фактор CREB кодируется геном *Creb1*. Хроническое введение ТС-2153 (10 мг/кг) не повлияло на экспрессию гена *Creb1* во фронтальной коре ($F_{1,16} = 0.24$), гиппокампе ($F_{1,18} = 0.01$) и среднем мозге ($F_{1,18} = 0.23$) (Рис.18).

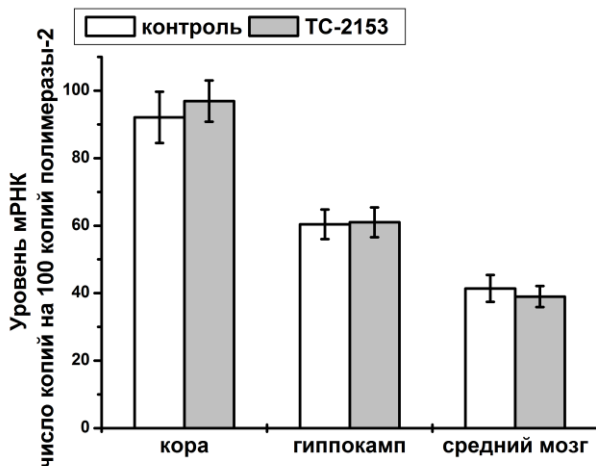


Рис.18. Влияние хронического введения ТС-2153 (10 мг/кг) на уровень мРНК гена *Creb1* во фронтальной коре, гиппокампе и среднем мозге. Уровень мРНК гена *Creb1* в исследуемых структурах представлен как количество копий на 100 копий мРНК гена *Polr2a*.

$n=8-9$.

Таким образом, было обнаружено увеличение экспрессии гена *Bdnf* в гиппокампе, где наблюдается наибольшая концентрация нейротрофического фактора BDNF. Однако не было обнаружено изменений в экспрессии гена транскрипционного фактора CREB, что говорит о возможности увеличения экспрессии BDNF за счет другого транскрипционного фактора.

Глава 4. Обсуждение.

Методом магнитно-резонансной томографии нами были исследованы структуры мозга, в которых происходят изменения при нейродегенеративных заболеваниях, таких как депрессия и шизофрения, отвечающие за обучение, память, каталепсию и реакцию на стресс (гипофиз, стриатум, промежуточный мозг, мозолистое тело (*corpus callosum*), средний мозг и гиппокамп). Была обнаружена ассоциация между предрасположенностью к наследственной каталепсии и морфологическими изменениями в мозге. Размер гипофиза мышей каталептических линии (ASC, CBA и M76C) был достоверно меньше, чем у мышей некаталептической линии AKR. Это говорит о возможных изменениях в центральной нейроэндокринной регуляции.

В настоящее время существует множество противоречивых данных о связи размера гипофиза с психическими заболеваниями (Krishnan et al., 1991; Pariante et al., 2004). Нами было показано, что самым маленьким гипофизом обладает линия мышей ASC, которая характеризуется наибольшим процентом каталептиков и депрессивноподобными нарушениями поведения. У этой линии наряду с изменением размеров гипофиза было обнаружено и резкое уменьшение стриатума, промежуточного мозга и мозолистого тела. Подобные изменения в разной степени наблюдаются у пациентов, страдающих депрессией и шизофренией (Gaser et al., 2004; Cyprien et al., 2011; Arnone et al., 2012; Janssen et al., 2012; Nan et al., 2013; Macmaster et al., 2013). При депрессии имеет место также резкое уменьшение размеров гиппокампа (Bremner et al., 2000; Schweitzer et al., 2001), однако, в нашей работе мы не обнаружили различий в этой структуре. Возможно, что полученные морфологические изменения в мозге у этих мышей связаны специфически с предрасположенностью к каталепсии, однако в настоящее время работ, посвященных именно влиянию каталепсии на морфологические изменения мозга у пациентов, нет.

Ранее было показано, что введение в мозг BDNF приводит к исчезновению каталепсии у мышей ASC и CBA (Тихонова и др., 2009b; Naumenko et al., 2012; Tikhonova et al., 2012). Поскольку известно, что BDNF участвует в нейрогенезе, то эти данные являются косвенным доказательством того, что каталепсия связана с нейродегенеративными процессами в мозге.

Обнаруженное нами уменьшение размеров целого ряда структур головного мозга у мышей каталептиков с одной стороны является прямым доказательством высказанного выше предположения о нейродегенеративных процессах, с другой еще одним подтверждением

того, что данные линии мышей и особенно ASC, являются адекватной моделью психических заболеваний человека.

Кроме того, мыши линии ASC характеризуются наибольшей предрасположенностью к каталепсии (75%), а также депрессивноподобным нарушением поведения (Базовкина и др., 2005; Лисачев и др., 2008; Дубровина и др., 2009; Зиновьев и др., 2009). Каталепсия у мышей ASC аналогично депрессии у людей чувствительна к хроническому введению классических антидепрессантов (флуоксетина и имипрамина) (Тихонова и др., 2006; 2009а) и BDNF (Тихонова и др., 2009b; Tikhonova et al., 2012). В нашем исследовании было обнаружено, что ТС-2153 достоверно уменьшал процент каталептиков и время каталептического замирания у мышей ASC уже при однократном введении в дозах 20 и 40 мг/кг. В то же время, острое введение классических антидепрессантов имипрамина (Тихонова и др., 2006) или флуоксетина (Тихонова и др., 2009а) в дозах 20 мг/кг не оказывало антикаталептического действия на мышей ASC. Полученный результат свидетельствует о том, что антикаталептическая активность ТС-2153 выше, чем у классических антидепрессантов (имипрамина и флуоксетина), которые проявляют антикаталептическое действие только после длительного (14 дней) введения. Интересно отметить, что по интенсивности антикаталептического эффекта острое введение препарата ТС-2153 сопоставимо с эффектом мощного антикаталептического препарата 8-ОН-DPAT (Kulikov et al., 2012), который является агонистом 5-HT_{1A} рецепторов.

При хроническом введении (12 дней) ТС-2153 в дозе 10 мг/кг per os было обнаружено достоверное уменьшение процента каталептиков и продолжительности каталепсии у мышей линии ASC. Внутривентрикулярное введение классических антидепрессантов флуоксетина (Тихонова и др., 2009а) и имипрамина (Тихонова и др., 2006) в течение 14 дней в дозе 20 мг/кг оказывало схожий антикаталептический эффект. Следовательно, для подавления каталепсии эффективны как высокие дозы при однократном введении препарата ТС-2153, так и низкие при хроническом введении. Одной из основных проблем современных психотропных препаратов является необходимость их применения в течение длительного периода времени для получения терапевтического эффекта (Nestler et al., 2002), а способность ТС-2153 оказывать антикаталептический эффект и при остром, и при хроническом введении, говорит о его высокой эффективности.

Известно, что классическим тестом для тестирования клинических антидепрессантов является тест «принудительное плавание» (тест Порсолта). Этот тест обладает самым высоким predictive validity, то есть все эффективные антидепрессанты снижают время неподвижности животного, которое расценивается, как чувство безысходности,

неспособности выбраться из сосуда с водой. Однократное введение ТС-2153 снижало время неподвижности в этом тесте у линии мышей ASC, характеризующейся депрессивноподобным нарушением поведения. Ранее было показано, что острое введение имипрамина также снижает время неподвижности у животных этой линии в данном тесте (Тихонова и др., 2006). Таким образом, ТС-2153 оказывает антидепрессантный эффект, схожий с классическими антидепрессантами.

Большинство антидепрессантов, помимо позитивного терапевтического действия, обладают рядом негативных побочных эффектов, ухудшающих самочувствие и качество жизни пациентов и снижающих терапевтическое значение препарата (Zienowicz et al., 2006). Так имипрамин понижал исследовательскую активность у мышей ASC (Тихонова и др., 2006). В идеале, хороший антидепрессант должен иметь высокую антидепрессивную активность и не иметь при этом негативных побочных эффектов.

В тесте «открытое поле», который является стандартным тестом для исследования двигательной и исследовательской активностей, острое и хроническое введения ТС-2153 не повлияли на двигательную и исследовательскую активности у мышей линии ASC. В предыдущих экспериментах было показано, что препарат ТС-2153 в дозе 10 мг/кг значительно увеличивал исследовательскую активность в тесте hole board у мышей. Полученный результат был интерпретирован, как анксиолитический (снижающий тревожность) эффект препарата (Khomeenko et al., 2009). Однако данный тест редко используется для изучения анксиолитической активности препаратов. Рекомендованными тестами для оценки влияния препарата на тревожность являются тест «открытое поле», в котором основным показателем анксиолитической активности является увеличение времени, проведенного в центре поля, и тест «приподнятый крестообразный лабиринт», в котором показателем анксиолитической активности препарата является увеличение времени, проведенного в открытых рукавах (Lister, 1987; Prut, Belzung, 2003; Kliethermes, 2005; Calabrese, 2008). Ни острое, ни хроническое введения ТС-2153 не оказали влияния ни на время, проведенное в центре поля, ни на время в открытых рукавах, лишь высокая доза (40 мг/кг) достоверно снижала время в центре поля. Следовательно, в нашем эксперименте мы не обнаружили анксиолитического эффекта препарата ТС-2153, и лишь высокая доза увеличивала тревожность. Увеличение тревожности при остром введении антидепрессантов наблюдается в клинике и может быть спровоцировано даже средней дозой антидепрессанта (Birkett et al., 2011). Таким образом, ТС-2153 в маленькой и средней дозах не оказывал влияния на поведение мышей линии ASC в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт».

Основной причиной большого спектра побочных действий антидепрессантов, а также высокого процента пациентов, нечувствительных к их действию, является индивидуальная особенность организма пациентов, которая определяется генетическими факторами. Поэтому было интересно изучить влияние генотипа на поведенческие эффекты препарата ТС-2153 в сравнении с классическими антидепрессантами, флуоксетином и имипрамином.

Мы показали, что ТС-2153 оказывает выраженный антидепрессантный эффект в тесте «принудительное плавание», соизмеримый с действием клинически эффективных антидепрессантов. Этот эффект проявлялся у двух (AKR и M76C) из трех исследуемых линий, в то же время линия CBA оказалась не восприимчива к действию препарата. Эти межлинейные различия в действии ТС-2153 на поведение мышей в тесте «принудительное плавание» согласуются с отмеченным многими авторами влиянием генотипа на эффекты антидепрессантов (Cervo et al., 2005; Kulikov et al., 2011; Lucki et al., 2001). В данном исследовании мы показали, что мыши линии M76C более чувствительны к действию антидепрессантов, чем животные линии CBA. Ранее было показано, что хроническое введение антидепрессантов не снижало выраженности каталепсии у линии CBA (Тихонова и др., 2009а). Высокую чувствительность к антидепрессантам у мышей линий M76C и ASC по сравнению с животными CBA можно объяснить следующим образом: CBA-аллель главного локуса каталепсии, локализованный в терминальном фрагменте хромосомы 13 (Kulikov et al., 2008а), вызывает нарушения функции нервной системы, ассоциированные с депрессивноподобной формой поведения. У мышей линии CBA действие этого локуса, по-видимому, компенсировано генами модификаторами, и каталепсия у этой линии не сопровождается значительными нарушениями функции мозга и поведения. В то же время, при создании линий M76C и ASC эти компенсаторные механизмы были искусственно нарушены, что и привело к изменениям поведения в используемых тестах у мышей этих линий по сравнению с родительскими. Известно, что эффекты антидепрессантов слабее проявляются на «нормальных» добровольцах, чем на депрессивных пациентах (Willner, 1990). Высокую чувствительность каталептических линий ASC и M76C к антидепрессантам можно рассматривать как еще одно доказательство связи наследственной каталепсии с механизмами депрессии.

Нами не был обнаружен эффект ТС-2153 в дозе 20 мг/кг на двигательную, исследовательскую активности и тревожность у мышей каталептических линий – CBA, M76C и ASC. Однако у мышей устойчивой к каталепсии линии AKR препарат ТС-2153 увеличивал пройденный путь (двигательную активность) в тесте «открытое поле» и время,

проведенное в открытых рукавах, в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Считается, что время, проведенное в центре «открытого поля», или в открытых рукавах «приподнятого крестообразного лабиринта», негативно коррелирует с тревожностью (Belzung, Griebel, 2001). Однако классические антидепрессанты, флуоксетин и имипрамин, в той же дозе 20 мг/кг показали ряд негативных побочных эффектов. Так, флуоксетин уменьшал двигательную активность и вызывал тревожность у мышей линий АКР и СВА, а имипрамин подавлял двигательную и исследовательскую активности у животных М76С. Таким образом, в отличие от классических антидепрессантов препарат ТС-2153 не оказывает негативных побочных эффектов в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт».

Известно, что серотониновая система головного мозга вовлечена в механизм депрессии и действия психотропных препаратов. Так, клинически эффективные антидепрессанты увеличивают концентрацию серотонина в синаптической щели, либо за счет ингибирования обратного захвата транспортера, либо за счет ингибирования основного фермента разрушения серотонина МАОА. Значительную роль в регуляции концентрации серотонина в синаптической щели играют пресинаптические 5-НТ_{1А} ауторецепторы, которые по принципу отрицательной обратной связи тормозят импульсную активность нейрона и, как следствие, выход серотонина в синаптическую щель. Ранее было показано, что хроническое введение классических антидепрессантов может привести к таким изменениям активности серотониновой системы, как снижение активности ТПГ в мозге (Moret, Briley, 1992), уменьшение активности фермента МАОА (Morishima et al., 2006), десенситизация и снижение уровня белка и мРНК пресинаптических 5-НТ_{1А} рецепторов в среднем мозге (Pineyro, Blier, 1999; Savitz et al., 2009), а также к уменьшению плотности белка транспортера (Benmansour et al., 1999; 2002; Hirano et al., 2005; Mirza et al., 2007). Таким образом, влияние на активность и экспрессию генов одного или нескольких ключевых белков 5-НТ системы - ТПГ-2, фермента МАОА, плотность 5-НТ_{1А} – рецептора и белка транспортера 5-НТ, можно считать свидетельством антидепрессантной активности препарата.

В нашей работе не было обнаружено изменений в экспрессии генов, кодирующих ТПГ-2 и 5-НТ транспортер в среднем мозге, при введение препарата ТС-2153 в течение 16 дней. В то же время, хроническое введение препарата (16 дней) оказало значительный эффект на экспрессию других ключевых генов 5-НТ системы – 5-НТ_{1А} рецептора и МАОА в среднем мозге, где локализованы тела 5-НТ нейронов, однако не повлияло на экспрессию этих генов в коре и гиппокампе. Снижение экспрессии гена 5-НТ_{1А} рецептора в телах 5-НТ

нейронов говорит о влиянии препарата ТС-2153 на ауторецепторы этих нейронов. Подобная картина снижения уровня мРНК и белка 5-НТ_{1А} ауторецепторов наблюдается при хроническом введении классических антидепрессантов (Blier, de Montigny, 1994), а также при действии анксиолитиков буспиринового ряда (Barnes, Sharp, 1999; Savitz et al., 2009) и агонистов 5НТ_{1А} рецептора (Pорова et al., 2010).

Можно предположить, что антикаталептический и антидепрессантный эффекты ТС-2153 связаны с увеличением концентрации 5-НТ в тканях мозга, которое возникает, предположительно, из-за уменьшения количества как 5-НТ_{1А}-ауторецепторов, блокирующих синтез и секрецию 5-НТ, так и фермента разрушения 5-НТ - МАОА.

Помимо серотониновой системы, в механизме возникновения депрессии и действии классических антидепрессантов участвуют нейротрофический фактор мозга BDNF и его транскрипционный фактор CREB. Эти белки являются молекулярными маркерами выживаемости нейронов и нейрогенеза (Hashimoto, 2010; Calabrese et al., 2011). Известно, что катаlepsия, вызванная галоперидолом, связана с уменьшением активности MAP-киназного пути, который активируется белком BDNF (Parikh et al., 2004; Pillai et al., 2008), а при депрессии в мозге наблюдается снижение концентрации белка BDNF и уровня мРНК его гена (Smith et al., 1995; Chen et al., 2001; Duman, Monteggia, 2006; Haenisch et al., 2009; Pandey et al., 2010). В то же время клинически эффективные антидепрессанты приводят к увеличению концентрации белка BDNF и экспрессии кодирующего его гена, а также в некоторых случаях увеличивают экспрессию гена *Creb1* в гиппокампе (Nibuya et al., 1995; Thome et al., 2000; Castren et al. 2004; Balu et al., 2008). В нашей работе было обнаружено значительное увеличение экспрессии гена *Bdnf* в гиппокампе (но не в коре и среднем мозге) после хронического введения ТС-2153 у мышей линии ASC. В то же время не было обнаружено увеличения экспрессии гена *Creb1* в исследуемых структурах. Возможно, это связано с тем, что ТС-2153 действует по механизму, отличному от классических антидепрессантов, и не вовлекает в этот механизм CREB, а активирует BDNF через другой транскрипционный фактор. Однако и ТС-2153, и классические антидепрессанты имеют общую ключевую стадию – увеличение экспрессии гена *Bdnf*.

Увеличение экспрессии *Bdnf*, возможно, происходит из-за увеличения уровня серотонина в тканях мозга, в том числе и в синаптической щели. В связи с этим значительный интерес представляет механизм действия ТС-2153 на серотониновую систему и экспрессию генов ее ключевых белков. Известно, что классический агонист 5-НТ_{1А} рецепторов 8-ОНДРАТ не изменяет экспрессию BDNF (Vaidya et al., 1997), к тому же в дополнительных экспериментах нами было показано, что ТС-2153 не изменяет температуру

тела животного в отличие от агонистов 5-HT_{1A} рецепторов. Известно, что ингибиторы МАОА подавляют каталепсию, вызванную галоперидолом (Worms et al., 1987), оказывают антидепрессантное действие (Shih, Thompson, 1999) и достоверно увеличивают экспрессию *Bdnf* в мозге (Desino et al., 2009; Nibuya et al., 1996). Нами также было получено, что ТС-2153 подавляет экспрессию гена *Maoa* в среднем мозге, однако химическая структура препарата, а именно присутствие 5-членного кольца серы в его молекуле, отличается от структуры известных лигандов МАОА, а также

5-HT_{1A} рецептора, 5-HT-транспортера и ТПГ-2.

Влияние ТС-2153 на экспрессию генов в мозге являются косвенным доказательством того, что данный препарат проникает через гемато-энцефалический барьер и действует на центральную нервную систему.

Заключение

Таким образом, в данной работе была обнаружена связь морфологических изменений в мозге с наследственной предрасположенностью к каталепсии, а также с депрессивноподобным поведением. Обнаружены антикаталептический и антидепрессантный эффекты препарата ТС-2153 без видимых негативных побочных действий. В то же время, было показано, что антидепрессантный эффект препарата зависит от генотипа. Полученные данные свидетельствуют о том, что оптимальной при остром введении является доза 20 мг/кг, а при хроническом введении достаточно дозы 10 мг/кг. Обнаруженные после введения ТС-2153 изменения поведения животных, а также изменения экспрессии генов в отделах мозга можно считать доказательством способности препарата ТС-2153 проходить гематоэнцефалический барьер.

Влияние ТС-2153 на 5-HT систему головного мозга и на экспрессию гена нейротрофического фактора мозга BDNF, его антикаталептический и антидепрессантный эффекты, а также ранее показанные антиконвульсивный эффект и низкая токсичность (Khomenko et al., 2009), в сочетании с отсутствием негативного влияния на двигательную активность, исследовательскую активность и тревожность, говорит о его психотропных свойствах и указывают на высокую эффективность.

Выводы

1. Методом магнитно-резонансной томографии у мышей, различающихся по предрасположенности к наследственной каталепсии были выявлены различия в размерах некоторых структур мозга (гипофиз, промежуточный мозг, стриатум, мозолистое тело), при неизменном общем объеме мозга у этих животных.
2. Мыши конгенной линии AKR.CBA-D13Mit76, генетически предрасположенные к каталепсии, характеризуются повышенной чувствительностью к действию антидепрессантов (имипрамин, флуоксетин, ТС-2153).
3. Выявлено существенное антидепрессантное действие ТС-2153 на мышей линий ASC, AKR и AKR.CBA-D13Mit76.
4. Выявлено существенное дозозависимое антикаталептическое действие ТС-2153 на мышей линии ASC.
5. Хроническое введение препарата ТС-2153 (10.0 мг/кг) оказывает антикаталептический эффект, но не оказывает влияния на двигательную активность, исследовательскую активность, тревожность в тесте «открытое поле» и тревожность в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» у мышей линии ASC.
6. В отличие от флуоксетина и имипрамина препарат ТС-2153 (10.0 и 20.0 мг/кг) не понижает двигательную и исследовательскую активности и не увеличивает тревожность у исследованных животных.
7. Выявлено влияние хронически вводимого ТС-2153 на экспрессию в среднем мозге ключевых генов, кодирующих белки серотониновой системы: снижение экспрессии гена *Htr1a*, кодирующего 5-HT_{1A}-рецептор, и гена *Maoa*, кодирующего основной фермент разрушения серотонина MAOA.
8. При хроническом введении ТС-2153 обнаружено увеличение в гиппокампе уровня мРНК гена *Bdnf*, кодирующего нейротрофический фактор мозга BDNF, но не гена *Creb1*, кодирующего цАМФ-зависимый транскрипционный фактор CREB.

Список цитируемой литературы

1. Альперина, Е.Л. Характер иммунного ответа у мышей новой линии ASC (antidepressant sensitive catalepsy) / Е.Л. Альперина, А.В. Куликов, Н.К. Попова, Т.В. Идова // Бюлл. экспер. биол. мед. — 2007. — Т.8. — № 1-2. — С.188-190.
2. Базовкина, Д.В. Селекция на предрасположенность к катаlepsии усиливает депрессивноподобное поведение у мышей / Д.В. Базовкина, А.В. Куликов, Е.М. Кондаурова, Н.К. Попова // Генетика. — 2005. — Т.41. — № 9. — С.12202-1228.
3. Гомазков, О.А. Старение мозга и нейротрофическая терапия / О.А. Гомазков. — Москва : ИКАР, 2011. — 180 с.
4. Дубровина, И.И. Обучение и угашение реакции пассивного избегания мышей с высокой предрасположенностью к катаlepsии / И.И. Дубровина, Д.Р. Зиновьев, Д.В. Зиновьева, А.В. Куликов // Рос. Физиол. Журн. — 2008. — Т.94. — № 6. — С.609-616.
5. Закс, Л. Статистическое оценивание / Л. Закс. — Москва : Статистика, 1976. — 598 с.
6. Зиновьев, Д.Р. Развитие амнезии у мышей разных линий / Д.Р. Зиновьев, Н.И. Дубровина, А.В. Куликов // Бюлл. экспер. биол. мед. — 2009. — Т.147. — № 5. — С.484-486.
7. Зубков, Е.А. Влияние тироксина на поведение мышей с наследственными различиями в предрасположенности к катаlepsии / Е.А. Зубков, А.В. Куликов // Бюлл. экспер. биол. мед. — 2009. — Т.147. — № 2. — С.177-180.
8. Зубков, Е.А. Хроническое действие тироксина на поведение и серотониновые рецепторы у контрастных по предрасположенности к катаlepsии линий мышей / Е.А. Зубков, А.В. Куликов, В.С. Науменко, Н.К. Попова // Журн. высш. нервн. деят. — 2008. — Т.58. — № 4. — С.483-490.
9. Карманова, И.Г. Фотогенная катаlepsия / И.Г. Карманова — Москва : Наука, 1964. — 251 с.
10. Колпаков, В.Г. Кататония у животных. Генетика, нейрофизиология, нейрохимия / В.Г. Колпаков — Новосибирск : Наука, 1990. — 168 с.
11. Колпаков, В.Г. Взаимоотношение между некоторыми формами катаlepsии у крыс. Попытка генетического анализа / В.Г. Колпаков, Н.Н. Барыкина, В.Ф. Чугуй, Т.А. Алехина // Генетика. — 1999. — Т.35. — № 6. — С.807-810.
12. Кондаурова, Е.М. Исследование взаимосвязи катаlepsии с тревожностью, агрессией и депрессивно-подобным поведением с помощью конгенных линий мышей / Е.М.

- Кондаурова, Д.В. Базовкина, А.В. Куликов // Рос. Физиол. журн. — 2010. — Т.96. — № 5. — С.464-471.
13. Кондаурова, Е.М. Высокая предрасположенность к каталепсии снижает межсамцовую агрессию и повышает амплитуду акустического рефлекса вздрагивания / Е.М. Кондаурова, А.В. Куликов, Д.В. Базовкина, Н.К. Попова // Журн. высш. нервн. деят. — 2007. — Т.57. — № 4. — С.501-507.
 14. Куликов А.В. Наследственная каталепсия. К вопросу о генетико-молекулярных механизмах каталепсии у мышей / А.В. Куликов // Генетика. — 2004. — Т.40. — № 6. — С.1-8.
 15. Куликов, А.В. Проверка гипотез о сцеплении в гибридологическом анализе альтернативных поведенческих признаков с неполной пенетрантностью / А.В. Куликов, Д.В. Базовкина // Генетика. — 2003. — Т. 39. — № 8. — С. 1066-1072.
 16. Куликов, А.В. Картирование гена предрасположенности к каталепсии у мышей с помощью полиморфных микросателлитных маркеров / А.В. Куликов, Д.В. Базовкина, М.П. Муазан, П. Мормэд // Докл. Акад. Наук. — 2003. — Т. 393. — №1. — С. 134-137.
 17. Куликов, А.В. Закономерности наследования каталепсии у мышей / А.В. Куликов, Е.Ю. Козлачкова, Н.К. Попова // Генетика. — 1989. — Т.25. — №1. — С.1402-1408.
 18. Куликов, А.В. Влияние терминального фрагмента хромосомы 13 мыши на предрасположенность к каталепсии и на экспрессию генов, кодирующих триптофангидроксилазу-2, транспортер серотонина и 5-НТ1А рецептор в мозге / А.В. Куликов, В.С. Науменко, Д.В. Базовкина, В.Ю. Ди, Д.В. Осипова, Н.К. Попова // Бюлл. экспер. биол. мед. — 2009. — Т.147. — №5. — С. 553-556.
 19. Куликов, А.В. Роль гликопротеида gr130 в регуляции серотониновой медиаторной системы головного мозга мышей / А.В. Куликов, В.С. Науменко, А.С. Цыбко, Н.А. Синякова, Д.В. Базовкина, Н.К. Попова // Молек. биол. — 2010. — Т.44. — № 5. — С. 904-910.
 20. Куликов, А.В. Влияние нового психотропного препарата гидрохлорида 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амина на экспрессию генов, вовлеченных в метаболизм и рецепцию медиатора серотонина, в головном мозге мышей / А.В. Куликов, М.А. Тихонова, Е.А. Куликова, Т.М. Хоменко, Д.В. Корчагина, К.П. Волчо, Н.Ф. Салахутдинов, Н.К. Попова // Мол. биол. — 2011. — Т. 45. — № 2. — С. 282-288.
 21. Лисачев, П.Д. Эпилептиформная активность в гиппокампе мышей с разной предрасположенностью к щипковой каталепсии / П.Д. Лисачев, Т.А. Запара, А.В.

- Куликов, Д.В. Базовкина, Н.К. Попова // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2008. — Т. 145. — № 3. — С. 263-265.
22. Науменко, В.С. Влияние селекции на высокую предрасположенность к каталепсии, на функциональную активность 5-НТ_{1А}-рецепторов и экспрессию кодирующего их гена / В.С. Науменко, Е.М. Кондаурова, А.В. Куликов, Н.К. Попова // Докл. Акад. Наук. — 2006а. — Т.409. — № 1. — С.133-135.
 23. Науменко, В.С. Количественное определение экспрессии гена 5-НТ_{1А} серотонинового рецептора в головном мозге / В.С. Науменко, А.В. Куликов // Мол. Биол. — 2006б. — Т.40. — № 1. — С.37-44.
 24. Пальцев, М.А. Межклеточные взаимодействия / М.А. Пальцев, А.А. Иванов, С.Е. Северин — Москва : Медицина, 2003. — 288 с.
 25. Попова, Н.К. Роль серотонина мозга в экспрессии генетически детерминированного защитно-оборонительного поведения / Н.К. Попова // Генетика. — 2004. — Т.40. — № 6. — С.770-778.
 26. Попова, Н.К. Серотонин в генетически детерминированных видах защитного поведения / Н.К. Попова // Журн. Высш. Нервн. Деят. — 1997. — Т.47. — № 2. — С.350-357.
 27. Попова Н.К., Куликов А.В. Многообразие серотониновых рецепторов как основа полифункциональности серотонина. Успехи функциональной нейробиологии / Н.К. Попова, А.В. Куликов, под общ. ред. С.А. Дамбиновой, А.В. Арутюнян — Из-во С.-Петербургского университета — 2003. — С.56-73.
 28. Попова, Н.К. Серотонин и поведение / Н.К. Попова, Е.В. Науменко, В.Г. Колпаков. — Новосибирск : Наука, 1978. — 304 с.
 29. Тихонова, М.А. Влияние хронического введения флуоксетина на каталепсию и иммунный ответ мышцей с генетической предрасположенностью к реакции замиранья: Роль серотониновых рецепторов 1А и 2А типов и генов *trh2* и *SERT* / М.А. Тихонова, Е.Л. Альперина, Т.Г. Толстикова, Д.В. Базовкина, В.Ю. Ди, Г.В. Идова, А.В. Куликов, Н.К. Попова // Журн. Высш. Нервн. Деят. — 2009а. — Т.59. — № 2. — С.237-244.
 30. Тихонова, М.А. Внутримозговое введение нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) снижает выраженность каталептического замиранья у мышцей с генетической предрасположенностью к каталепсии / М.А. Тихонова, А.В. Куликов, В.С. Науменко, М.В. Морозова., Д.В. Базовкина, Н.К. Попова // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2009б. — Т.148. — № 12. — С.649-652.

31. Тихонова, М.А. Эффект имипрамина на поведение и 5-HT_{1A}-серотониновые рецепторы мозга у мышей с генетической предрасположенностью к реакции замирания / М.А. Тихонова, В.В. Лебедева, А.В. Куликов, Д.В. Базовкина, Н.К. Попова // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2006. — Т.141. — № 1. — С.53-55.
32. Тихонова, М.А. Влияние хронического введения флуоксетина на выраженность полового мотивационного и социального поведения мышей линии ASC / М.А. Тихонова, Е.А. Отрощенко, А.В. Куликов // Росс. физиол. журн. — 2010. — Т.96. — № 2. — С.163-172.
33. Aghajanian G.K. Electrophysiology of serotonin receptor subtypes and signal transduction pathways. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* / G.K. Aghajanian, editors F.E. Bloom, D.J. Kupfer — Raven Press. — 1995. — P.1451-1459.
34. Albert, V.R. A single gene codes for aromatic L-amino acid decarboxylase in both neuronal and non neuronal tissues / V.R. Albert, J.M. Allen, T.H. Joh // *J. Biol. Chem.* — 1987. — Vol. 262. — N 19. — P. 9404-9411.
35. Alenina, N. Growth retardation and altered autonomic control in mice lacking brain serotonin / N. Alenina, D. Kikic, M. Todiras, V. Mosienko, F. Qadri, R. Plehm, P. Boye, L. Vilianovitch, R. Sohr, K. Tenner, H. Hortnaql, M. Bader // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106. — N 25. — P. 10333-10337.
36. Arnone, D. Magnetic resonance imaging studies in unipolar depression: systematic review and meta-regression analyses / D. Arnone, A.M. McIntosh, K.P. Ebmeier, M.R. Munafò, I.M. Anderson // *Eur. Neuropsychopharmacol.* — 2012. — Vol. 22. — N 1. — P. 1-16.
37. Balu, D.T. Differential regulation of central BDNF protein levels by antidepressant and non-antidepressant drug treatments / D.T. Balu, B.A. Hoshaw, J.E. Malberg, S. Rosenzweig-Lipson, L.E. Schechter, I. Lucki // *Brain. Res.* — 2008. — Vol. 1211. — P. 37-43.
38. Barde, Y.A. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain / Y.A. Barde, D. Edgar, H. Thoenen // *EMBO. J.* — 1982. — Vol. 1. — N 5. — P. 549-553.
39. Barker, E.L. Norepinephrine and serotonin transporters. Molecular targets of antidepressant drugs. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* / E.L. Barker, R.D. Blakey, editors F.E. Bloom, D.J. Kupfer — Raven Press. — 1995. — P.321-333.
40. Barnes, N.M. A review of central 5-HT receptors and their function / N.M. Barnes, T. Sharp // *Neuropharmacol.* — 1999. — Vol. 38. — N 8. — P. 1083-1152.
41. Bauer, M. Thyroid hormones, serotonin and mood: of synergy and significance in the adult brain / M. Bauer, A. Heinz, P.C. Whybrow // *Mol. Psychiatry.* — 2002. — Vol. 7. — N 2. — P. 140-156.

42. Beaudet, A. Quantitative data on serotonin nerve terminals in adult rat neocortex / A. Beaudet, L. Descarries // *Brain. Res.* — 1976. — Vol. 111. — N 2. — P. 301-309.
43. Beaudet, A. Ultrastructural identification of serotonin neurons. *Monoaminergic Neurons: Light Microscopy and Ultrastructure* / A. Beaudet, L. Descarries, editor in chief H.W.M. Steinbusch — Wiley. — 1987. — P.265-313.
44. Bellivier, F. Serotonin transporter gene polymorphisms in patients with unipolar or bipolar depression / F. Bellivier, C. Henry, A. Szöke, F. Schürhoff, M.Nosten-Bertrand, J. Feingold, J.M. Launay, M. Leboyer, J.L. Laplanche // *Neurosci. Lett.* — 1998. — Vol. 255. — N 3. — P. 143-146.
45. Belmaker R.H. The future of depression psychopharmacology / R.H. Belmaker // *CNS Spectr.* — 2008. — Vol. 13. — N 8. — P. 682-687.
46. Belmaker, R.H. Major depressive disorder / R.H. Belmaker, G. Agam // *N. Engl. J. Med.* — 2008. — Vol. 358. — N 1. — P. 55-68.
47. Belzung, C. Measuring normal and pathological anxiety-like behavior in mice: a review / C. Belzung, G. Griebel // *Behav. Brain. Res.* — 2001. — Vol. 125. — N 1-2 — P. 141-149.
48. Benmansour, S. Effect of chronic antidepressant treatments on serotonin transporter function, density, and mRNA level / S. Benmansour, M. Cecchi, D.A. Morilak, G.A. Gerhardt, M.A. Javors, G.G. Gould, A. Frazer // *J. Neurosci.* — 1999. — Vol. 19. — N 23. — P. 10494-10501.
49. Benmansour, S. Serotonin clearance in vivo is altered to a greater extent by antidepressant-induced downregulation of the serotonin transporter than by acute blockade of this transporter / S. Benmansour, W.A. Owens, M. Cecchi, D.A. Morilak, A. Frazer // *J. Neurosci.* — 2002 — Vol. 22. — N 15. — P. 6766-6772.
50. Bibel, M. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system / M. Bibel, Y.A. Barde // *Genes Dev.* — 2000. — Vol. 14. — N 23. — P. 2919-2937.
51. Birkett, M.A. Acute anxiogenic-like effects of selective serotonin reuptake inhibitors are attenuated by the benzodiazepine diazepam in BALB/c mice / M.A. Birkett, N.M. Shinday, E.J. Kessler, J.S. Meyer, S. Ritchie, J.K. Rowlett // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 2011. — Vol. 98. — N 4. — P. 544-551.
52. Blier, P. Current advances and trends in the treatment of depression / P. Blier, C. de Montigny // *Trends Pharmacol. Sci.* — 1994. — Vol. 15. — N 7. — P. 220-226.

53. Bremner, J.D. Hippocampal volume reduction in major depression / J.D. Bremner, M. Narayan, E.R. Anderson, L.H. Staib, H.L. Miller, D.S. Charney // *Am. J. Psychiatry*. — 2000. — Vol.157. — N 1. — P. 115-118.
54. Brewster, J. Facilitation of maternal transport by Norway rat pups / J. Brewster, M. Leon // *J. comp. physiol. Psychol.* — 1980. — Vol. 94. — N 1. — P. 80-88.
55. Bush, D.E. Individual differences in fear: isolating fear reactivity and fear recovery phenotypes / D.E. Bush, F. Sotres-Bayon, J.E. LeDoux // *J. Trauma Stress*. — 2007. — Vol. 20. — N 4. — P. 4232-4413.
56. Calabrese E.J. An assessment of anxiolytic drug screening tests: hormetic dose responses predominate / E.J. Calabrese // *Crit. Rev. Toxicol.* — 2008. — Vol. 38. — N 6. — P. 489-542.
57. Calabrese, F. Modulation of neuroplastic molecules in selected brain regions after chronic administration of the novel antidepressant agomelatine / F. Calabrese, R. Molteni, C. Gabriel, E. Mocaer, G. Racagni, M.A. Riva // *Psychopharmacol.* — 2011. — Vol. 251. — N 2. — P. 267-275.
58. Casanovas, J.M. Differential regulation of somatodendritic serotonin 5-HT_{1A} receptors by 2-week treatments with the selective agonists alnespirone (S-20499) and 8-hydroxy-2-(Di-n-propylamino)tetralin: microdialysis and autoradiographic studies in rat brain / J.M. Casanovas, M.T. Vilaro, G. Mengod, F. Artigas // *J. Neurochem.* — 1999. — Vol. 72. — N 1. — P. 262-272.
59. Castren E. Neurotrophic effect of antidepressant drugs / E. Castren // *Curr. Opin. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 4. — N 1. — P. 58-64.
60. Cervo L. Genotype-dependent activity of tryptophan hydroxylase-2 determines the response to citalopram in a mouse model of depression / L. Cervo, A. Canetta, E. Calcagno, S. Burbassi, G. Sacchetti, S. Caccia, C. Fracasso, D. Albani, G. Forloni, R.W. Invernizzi // *J. Neurosci.* — 2005. — Vol. 25. — N 36. — P. 8165-8172.
61. Chan, J.P. Depletion of central BDNF in mice impedes terminal differentiation of new granule neurons in the adult hippocampus / J.P. Chan, J. Cordeira, G.A. Calderon, L.K. Iyer, M. Rios // *Mol. Cell Neurosci.* — 2008. — Vol. 39. — N 3. — P. 372-383.
62. 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 // *Neurosci.* — 2006. — Vol. 142. — N 1. — P. 49-58.

63. Chatterji, T. DNA cleavage by 7-methylbenzopentathiepin: a simple analog of the tumor antibiotic varacin / T. Chatterji, K.S. Gates // *Biorg. Med. Chem. Lett.* — 1998. — Vol. 8. — N 5. — P. 535-538.
64. Chen, B. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication / B. Chen, D. Dowlatshahi, G.M. MacQueen, J.F. Wang, L.T. Young // *Biol. Psychiatry.* — 2001. — Vol. 50. — N 4. — P. 260–265.
65. Chen, Z.Y. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior / Z.Y. Chen, D. Jing, K.G. Bath, A. Ieraci, T. Khan, C.J. Siao, D.G. Herrera, M. Toth, C. Yang, B.S. McEwen, B.L. Hempstead, F.S. Lee // *Science.* — 2006. — Vol. 314. — N 5796. — P. 140–143.
66. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // *Anal. Biochem.* — 1987. — Vol. 162. — N 1. — P. 156-159.
67. Christiansen, L. Candidate gene polymorphisms in the serotonergic pathway: influence on depression symptomatology in an elderly population / L. Christiansen, Q. Tan, M. Iachina, L. Bathum, T.A. Kruse, M. McGue, K. Christensen // *Biol. Psychiatry.* — 2007. — Vol. 61. — N 2. — P. 223-230.
68. Cleare, A.J. Thyroxine replacement increases central 5-hydroxytryptamine activity and reduces depressive symptoms in hypothyroidism / A.J. Cleare, A. McGregor, S.M. Chambers, S. Dawling, V. O’Keane // *Neuroendocrinology.* — 1996. — Vol. 64. — N 1. — P. 65-69.
69. Cleare, A.J. Neuroendocrine evidence for an association between hypothyroidism, reduced central 5-HT activity and depression / A.J. Cleare, A. McGregor, V. O’Keane // *Clin. Endocrinol.* — 1995. — Vol. 43. — N 6. — P. 713-719.
70. Colin, S.F. Chronic lithium regulates the expression of adenylate cyclase and $G_{i\alpha}$ in rat cerebral cortex / S.F. Colin, H.C. Chang, S. Mollner, T. Pfeuffer, R.R. Reed, R.S. Duman, E.J. Nestler // *Proc Natl Acad Sci USA.* — 1991. — Vol. 88. — N 23. — P. 10634-10637.
71. Coppel, A.L. Bi-phasic change in BDNF gene expression following antidepressant drug treatment / A.L. Coppel, Q. Pei, T.S. Zetterström // *Neuropharmacology.* — 2003. — Vol. 44. — N 7. — P. 903-910.
72. Cryan J.F., Mombereau C. In search of a depressed mouse; utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice / J.F. Cryan, C. Mombereau // *Mol. Psychiatry.* — 2004. — Vol. 9. — N 4. — P. 326-357.

73. Cyprien, F. Suicidal behavior is associated with reduced corpus callosum area / F. Cyprien, P. Courtet, A. Malafosse, J. Maller, C. Meslin, A. Bonafé, E. Le Bars, N.M. de Champfleury, K. Ritchie, S. Artero // *Biol. Psychiatry*. — 2011. — Vol. 70. — N 4. — P. 320-326.
74. Dahlstrom, A. Evidence for the existence of an outflow of noradrenaline nerve fibres in the ventral roots of the rat spinal cord / A. Dahlstrom, K. Fuxe // *Experientia*. — 1965. — Vol. 21. — N 7. — P. 409-410.
75. Dahlstrom, A. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons / A. Dahlstrom, K. Fuxe // *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* — 1964. — Vol. 62. — P. 1-80.
76. De Ryck, M. Morphine catalepsy as an adaptive reflex state in rats / M. De Ryck, P. Teitelbaum // *Behav. Neurosci.* — 1984. — Vol. 98. — N 2. — P. 243-261.
77. Deltheil, T. Behavioral and serotonergic consequences of decreasing or increasing hippocampus brain-derived neurotrophic factor protein levels in mice / T. Deltheil, B.P. Guiard, J. Cerdan, D.J. David, K.F. Tanaka, C. Repérant, J.P. Guilloux, F. Coudoré, R. Hen, A.M. Gardier // *Neuropharmacology*. — 2008. — Vol. 55. — N 6. — P. 1006–1014
78. Deng, P.Y. Serotonin inhibits neuronal excitability by activating two-pore domain k^+ channels in the entorhinal cortex / P.Y. Deng, S.K. Poudel, L. Rojanathammanee, J.E. Porter, S. Lei // *Mol. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 72. — N 1. — P. 208-218.
79. Descarries, L. Serotonin nerve terminals in adult rat neocortex / L. Descarries, A. Beaudet, K.C. Watkins // *Brain Res.* — 1975. — Vol. 100. — N 3. — P. 563-588.
80. Desino, K.E. TCP-FA4: a derivative of tranlycypromine showing improved blood-brain permeability / K.E. Desino, R. Pignatello, S. Guccione, L. Basile, S. Ansar, M.L. Michaelis, R.R. Ramsay, K.L. Audus // *Biochem. Pharmacol.* — 2009. — Vol. 78. — N 11. — P. 1412-1417.
81. Dias, B.G. Differential regulation of brain derived neurotrophic factor transcripts by antidepressant treatments in the adult rat brain / B.G. Dias, S.B. Banerjee, R.S. Duman, V.A. Vaidya // *Neuropharmacology*. — 2003. — Vol. 45. — N 4. — P. 553-563.
82. Dixon, A.K. Ethological strategies for defense in animals and humans: Their role in some psychiatric disorders / A.K. Dixon // *Br. J. Med. Psychol.* — 1998. — Vol. 71. — N Pt 4. — P. 417-445.
83. Duman, R.S. Novel therapeutic approaches beyond the serotonin receptor / R.S. Duman // *Biol. Psychiatry*. — 1998. — Vol. 44. — N 5. — P. 324-335.
84. Duman, R.S. Synaptic plasticity and mood disorders / R.S. Duman // *Mol. Psychiatry*. — 2002. — Vol. 7. — N 1. — P. 29-34.

85. Duman, R.S. A molecular and cellular theory of depression / R.S. Duman, G.R. Heninger, E.J. Nestler // *Arch. Gen. Psychiatry.* — 1997. — Vol. 54. — N 7. — P. 597-606.
86. Duman, R.S. A neurotrophin model for stress-related mood disorders / R.S. Duman, L.M. Monteggia // *Biol. Psychiatry.* — 2006. — Vol. 59. — N 12. — P. 1116-1127.
87. Duric, V. A negative regulator of MAP kinase causes depressive behavior / V. Duric, M. Banasr, P. Licznanski, H.D. Schmidt, C.A. Stockmeier, A.A. Simen, S.S. Newton, R.S. Duman // *Nat. Med.* — 2010. — Vol.16. — N 11. — P. 1328–1332
88. Dwivedi, Y. Aberrant extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2 signaling in suicide brain: role of ERK kinase 1 (MEK1) / Y. Dwivedi, H.S. Rizavi, H. Zhang, R.C. Roberts, R.R. Conley, G.N. Pandey // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* — 2009. — Vol. 12. — N 10. — P. 1337–1354
89. Feighner, J.P. Serotonin-1A anxiolytics: an overview / J.P. Feighner, W.F., Boyer // *Psychopathology.* — 1989. — Vol. 22. — N 1. — P. 21-26.
90. Fitzpatrick, P.F. Tetrahydropterin-dependent amino acid hydroxylases / P.F. Fitzpatrick // *Ann. Rev. Biochem.* — 1999. — Vol. 68. — P. 355-381.
91. Fujimaki, K. Administration of a cAMP phosphodiesterase 4 inhibitor enhances antidepressant-induction of BDNF mRNA in rat hippocampus / K. Fujimaki, S. Morinobu, R.S. Duman // *Neuropsychopharmacology.* — 2000. — Vol. 22. — N 1. — P. 42-51.
92. Gallup, G.G. Tonic immobility: The role of fear and predation / G.G. Gallup // *Psychol. Res.* — 1977. — Vol. 27. — P. 41-61.
93. Gallup, G.G. The psychopharmacology of tonic immobility in chickens. The brain and behavior of the fowl / G.G. Gallup, J.L. Boren, S.D. Soares, L.B. Wallnau, editor in chief T. Ookawa — *Japan Sci. Soc. Press.* — 1983. — P.43-59.
94. Gaser, C. Ventricular enlargement in schizophrenia related to volume reduction of the thalamus, striatum, and superior temporal cortex / C. Gaser, I. Nenadic, B.R. Buchsbaum, E.A. Hazlett, M.S. Buchsbaum // *Am. J. Psychiatry.* — 2004. — Vol. 161. — N 1. — P. 154-156.
95. Geyer, M.A. Animal models of psychiatric disorders. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* / M.A. Geyer, A. Markou, editors F.E. Bloom, D.J. Kupfer — *Raven Press.* — 1995. — P.787-798.
96. Goldberg, J. The relationship between neuronal survival and regeneration / J. Goldberg, B.A. Barres // *Ann. Rev. Neurosci.* — 2000. — Vol. 23. — P. 579-612.

97. Greenberg, M. New insights in the biology of BDNF synthesis and release: implications in CNS function / M. Greenberg, B. Xu, B. Lu, B. Hempstead // *J. Neurosci.* — 2009. — Vol. 29. — N 4. — P. 12764-12767.
98. Guilloux, J.P. Characterization of 5-HT(1A/1B)-/- mice: an animal model sensitive to anxiolytic treatments / J.P. Guilloux, D.J. David, H.T. Nquyen, Q. Rainer, B.P. Guiard, C. Reperant, T. Deltheil, M. Toth, R. Hen, A.M. Gardier // *Neuropharmacol.* — 2011. — Vol. 61. — N 3. — P. 478-488.
99. Haenisch, B. Knockout of the norepinephrine transporter and pharmacologically diverse antidepressants prevent behavioral and brain neurotrophin alterations in two chronic stress models of depression / B. Haenisch, A. Bilkei-Gorzo, M.G. Caron, H. Bonisch // *J. Neurochem.* — 2009. — Vol. 111. — N 2. — P. 403-416
100. Han K.M., Choi S., Jung J., Na K.S., Yoon H.K., Lee M.S., Ham B.J. Cortical thickness, cortical and subcortical volume, and white matter integrity in patients with their first episode of major depression / K.M. Han, S. Choi, J. Jung, K.S. Na, H.K. Yoon, M.S. Lee, B.J. Ham // *J. Affect. Disord.* — 2014. — Vol. 155. — P. 42-8.
101. Hashimoto K. Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: an historical overview and future directions / K. Hashimoto // *Psychiatry. Clin. Neurosci.* — 2010. — Vol. 64. — N 4. — P. 341-357.
102. Hashimoto K. Critical role of brain-derived factor in mood disorders / K. Hashimoto, E. Shimizu, M. Iyo // *Brain Res. Brain Res. Rev.* — 2004. — Vol. 45. — N 2. — P. 104-114.
103. Hirano K. Effect of continuous administration of paroxetine on ligand binding site and expression of serotonin transporter protein in mouse brain / K. Hirano, T. Seki, N. Sakai, Y. Kato, H. Hashimoto, S. Uchida, S. Yamada // *Brain Res.* — 2005. — Vol. 1053. — N 1-2. — P. 154-161.
104. Hof, P.R. Comparative cytoarchitectonic atlas of the C57BL/6 and 129 Sv mouse brains / P.R. Hof, W.G. Young. — Amsterdam : Elsevier, 2000. — 7 p.
105. Hoshaw, B.A. Central administration of IGF-I and BDNF leads to longlasting antidepressant-like effects / B.A.Hoshaw, J.E. Malberg, I. Lucki // *Brain. Res.* — 2005. — Vol. 1037. — N 1-2. — P. 204-208
106. Jacobs, B.L. Structure and function of the brain serotonin system / B.L. Jacobs, E.C. Azmitia // *Physiol. Rev.* — 1992. — Vol. 72. — N 1. — P. 165-229.
107. Janssen J., Alemán-Gómez Y., Reig S., Schnack H.G., Parellada M., Graell M., Moreno C., Moreno D., Mateos-Pérez J.M., Udias J.M., Arango C., Descio M. Regional specificity of thalamic volume deficits in male adolescents with early-onset psychosis / J. Janssen, Y.

- Alemán-Gómez, S. Reig, H.G. Schnack, M. Parellada, M. Graell, C. Moreno, D. Moreno, J.M. Mateos-Pérez, J.M. Udías, C. Arango, M. Desco // *Br. J. Psychiatry.* — 2012. — Vol. 200. — N 1. — P. 30-36.
108. Jesberger, J.A. Brain output dysregulation induced by olfactory bulbectomy: an approximation in the rat of major depressive disorder in humans? / J.A. Jesberger, J.S. Richardson // *Int. J. Neurosci.* — 1988. — Vol. 38. — N 3-4. — P. 241-265.
109. Karege, F. Low brain derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity / F. Karege, G. Bondolfi, N. Gervasoni, M. Schwald, J.M. Aubry, G. Bertschy // *Biol. Psychiatry.* — 2005b. — Vol. 57. — N 9. — P. 1068–1072
110. Karege, F. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs / F. Karege, G. Vaudan M., Schwald, N. Perroud, R. La Harpe // *Brain. Res. Mol. Brain. Res.* — 2005a. — Vol. 136. — N 1-2. — P. 29–37
111. Khomenko, T.M. Synthesis of 6-amino-benzopentathiepine by reaction of 4-nitro-benzylidithiol-2-ones with NaHS / T.M. Khomenko, D.V. Korchagina, N.I. Komarova, K.P. Volcho, N.F. Salakhutdinov // *Lett. Org. Chem.* — 2011. — Vol. 8. — N 3. — P. 193-197.
112. Khomenko, T.M. 8-(Trifluoromethyl)-1,2,3,4,5-benzopentathiepin-6-amine: novel aminobenzopentathiepine having in vivo anticonvulsant and anxiolytic activities / T.M. Khomenko, T.G. Tolstikova, A.V. Bolkunov, M.P. Dolgikh, A.V. Pavlova, D.V. Korchagina, K.P. Volcho, N.F. Salakhutdinov // *Lett. in Drug Design & Discovery.* — 2009. — Vol. 6. — N 6. — P. 464-467.
113. Klemenhagen, K.C. Increased fear response to contextual cues in mice lacking the 5-HT_{1A} receptor / K.C. Klemenhagen, J.A. Gordon, D.J. David, R. Hen, C.T. Gross // *Neuropsychopharmacology.* — 2006. — Vol. 31. — N 1. — P. 101-111.
114. Klemm, W.R. Behavioral inhibition. *Brainstem Mechanisms of Behavior* / W.R. Klemm, editors W.R. Klemm, R.P. Vertes — John Wiley & Sons. — 1990. — P.497-533.
115. Klemm, W.R. Drug effects on active immobility responses: What they tell us about neurotransmitter systems and motor functions / W.R. Klemm // *Progress in Neurobiology.* — 1989. — Vol. 32. — N 5. — P. 403-422.
116. Kliethermes, C.L. Anxiety-like behaviors following chronic ethanol exposure / C.L. Kliethermes // *Neurosci. Biobehav. Rev.* — 2005. — Vol. 28. — N 8. — P. 837-350.
117. Koe, B.K. p-Chlorophenylalanine: A specific depletor of brain serotonin / B.K. Koe, A. Weissman // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* — 1966. — Vol. 154. — N 3. — P. 499-516.

118. Kolpakov, V.G. Genetic predisposition to catatonic behaviour and methylphenidate sensitivity in rats / V.G. Kolpakov, N.N. Barykina, I. Chepkasov // *Behav. Proc.* — 1981. — Vol. 6. — N 3. — P. 269-281.
119. Komisaruk B.R. Neural and hormonal interactions in the reproductive behavior of female rats / B.R. Komisaruk // *Adv. Behav. Biol.* — 1974. — Vol. 11. — P. 97-129.
120. Kondaurova, E.M. Selective breeding for catalepsy changes the distribution of microsatellite D13Mit76 alleles linked to the 5-HT1A serotonin receptor gene in mice / E.M. Kondaurova, D.V. Bazovkina, A.V. Kulikov, N.K. Popova // *Genes. Brain. Behav.* — 2006. — Vol. 5. — N 8. — P. 596-601.
121. Kornum, B.R. Central serotonin depletion affects rat brain areas differently: a qualitative and quantitative comparison between different treatment schemes / B.R. Kornum, C.L. Licht, P. Weikop, G.M. Knudsen, S. Aznar // *Neurosci. Lett.* — 2006. — Vol. 392. — N 1-2. — P. 129-134.
122. Korte, M. Hippocampal long term potentiation is impaired in mice lacking brain derived neurotrophic factor / M. Korte, P. Carroll, E. Wolf, G. Brem, H. Thoenen, T. Bonhoeffer // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 1995. — Vol. 92. — N 19. — P. 8856-8860.
123. Korte-Bouws, G.A. Blockade of corticosterone synthesis reduces serotonin turnover in the dorsal hippocampus of the rat as measured by microdialysis / G.A. Korte-Bouws, S.M. Korte, E.R. De Kloet, B. Bohus // *J. Neuroendocrinol.* — 1996. — Vol. 8. — N 11. — P. 877-881.
124. Krishnan, K.R. Pituitary size in depression / K.R. Krishnan, P.M. Doraiswamy, S.N. Lurie, G.S. Figiel, M.M. Husain, O.B. Boyko, E.H.Jr. Ellinwood, C.B. Nemeroff // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1991. — Vol. 72. — N 2. — P. 256-259.
125. Kulikov, A.V. Genetic structure of hereditary catalepsy in mice / A.V. Kulikov, D.V. Bazovkina, E.M. Kondaurova, N.K. Popova // *Genes. Brain. Behav.* — 2008a. — Vol. 7. — N 4. — P. 506-512.
126. Kulikov, A.V. Spatial learning in the Morris water maze in mice genetically different in the predisposition to catalepsy: the effect of intraventricular treatment with brain-derived neurotrophic factor / A.V. Kulikov, D.V. Fursenko, N.V. Khotskin, D.V. Bazovkina, V.A. Kulikov, V.S. Naumenko, E.Y. Bazhenova, N.K. Popova // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 2014. — Vol. 122. — P. 266-272.
127. Kulikov, A.V. Inheritance of predisposition to catalepsy in mice / A.V. Kulikov, E.Yu. Kozlachkova, G.B. Maslova, N.K. Popova // *Behav. Genet.* — 1993. — Vol.23. — N 4. — P. 379-384.

128. Kulikov, A.V. Automated analysis of antidepressant's effect in the forced swim test / A.V. Kulikov, M.V. Morosova, V.A. Kulikov, V.S. Kirichuk., N.K. Popova // *J. Neurosci. Meth.* — 2010. — Vol. 191. — N 1. — P. 26-31.
129. Kulikov, A.V. Quantitative RT-PCR of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} serotonin receptor mRNAs using genomic DNA as an standard / A.V. Kulikov, V.S. Naumenko, I.P. Voronova, M.A. Tikhonova, N.K. Popova // *J. Neurosci. Methods.* — 2005. — Vol. 141. — N 1. — P. 97-101.
130. Kulikov, A.V. Automated measurement of special preference in the open field test with transmitted lighting / A.V. Kulikov, M.A. Tikhonova, V.A. Kulikov // *J. Neurosci. Meth.* — 2008b. — Vol. 170. — N 2. — P. 345-351.
131. Kulikov, A.V. A new synthetic varacin analogue, 8-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,5-benzopentathiepin-6-amine hydrochloride (TC-2153), decreased hereditary catalepsy and increased the BDNF gene expression in the hippocampus in mice / A.V. Kulikov, M.A. Tikhonova, E.A. Kulikova, K.P. Volcho, T.M. Khomenko, N.F. Salakhutdinov, N.K. Popova // *Psychopharmacol (Berl).* — 2012. — Vol. 221. — N 3. — P. 469-478.
132. Kulikov, A.V. Association between tryptophan hydroxylase-2 genotype and the antidepressant effect of citalopram and paroxetine on immobility time in the forced swim test in mice / A.V. Kulikov, M.A. Tikhonova, D.V. Osipova, V.A. Kulikov, N.K. Popova // *Pharmacol. Biochem. Behavior.* — 2011. — Vol. 99. — N 4. — P. 683-687.
133. Kusserow, H. Reduced anxiety-related behaviour in transgenic mice overexpressing serotonin 1A receptors / H. Kusserow, B. Davies, H. Hortnagl., I. Voigt, T. Stroh, B. Bert, D.R. Deng, H. Fink, R.W. Veh, F. Theuring // *Brain. Res. Mol. Brain. Res.* — 2004. — Vol. 129. — N 1-2. — P. 104-116.
134. Lalonde, R. Relations between open-field, elevated plus-maze, and emergence tests in C57BL/6J and BALB/c mice injected with GABA- and 5HT-anxiolytic agents / R. Lalonde, C. Strazielle // *Fundam. Clin. Pharmacol.* — 2010. — Vol. 24. — N 3. — P. 365-376.
135. Lam, R.W. *Depression* / R.W. Lam, H. Mok — Oxford : University Press, 2008. — 116 p.
136. Lee, A.H.F. Acid-promoted DNA-cleaving activities and total synthesis of varacin C / A.H.F. Lee, J. Chen, D. Liu, T.Y.C. Leung, A.S.C. Chan, T. Li // *J. Am. Chem. Soc.* — 2002. — Vol. 124. — N 47. — P. 13972-13973.
137. Lesch, K.P. Gene-environment interaction and the genetics of depression / K.P. Lesch // *J. Psychiatry. Neurosci.* — 2004. — Vol. 29. — N 3. — P. 174-184.
138. Levi-Montalcini, R. The nerve growth factor: thirty-five years later / R. Levi-Montalcini // *EMBO J.* — 1987. — Vol. 6. — N 5. — P. 1145-1154.

139. Li, Y. TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment / Y. Li, B.W. Luikart, S. Birnbaum, J. Chen, C.H. Kwon, S.G. Kernie, R. Bassel-Duby, L.F. Parada // *Neuron*. — 2008. — Vol. 59. — N 3. — P. 399–412
140. Lister, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse / R.G. Lister // *Psychopharmacol. (Berl)*. — 1987. — Vol. 92. — N 2. — P. 180-185.
141. Litaudon, M. Lissoclinotoxins: antibiotic polysulfur derivatives from the tunicate *Lissoclinum perforatum* / M. Litaudon, F. Trigalo, M.-T. Martin, F. Frappier, M. Guyot // *Tetrahedron*. — 1994. — Vol. 50. — N 18. — P. 5323-5334.
142. Lucki, I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin / I. Lucki // *Biol. Psychiatry*. — 1998. — Vol. 44. — N 3. — P. 151-162.
143. Lucki, I. Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice / I. Lucki, A. Dalvi, A.J. Mayorga // *Psychopharmacol. (Berl)*. — 2001. — Vol. 155. — N 3. — P. 315-322.
144. Macmaster, F.P. Corpus callosal morphology in early onset adolescent depression / F.P. Macmaster, N. Carrey, L. Marie Langevin // *J. Affect. Disord.* — 2013. — Vol. 145. — N 2. — P. 256-259.
145. Maes, M. The serotonin hypothesis of major depression. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* / M. Maes, H.Y. Meltzer, editors F.E. Bloom, D.J. Kupfer — Raven Press. — 1995. — P.933-944.
146. Maier, S.F. Learned helplessness: theory and evidence / S.F. Maier, M.E.P. Seligman // *J. Exp. Psychol.* — 1976. — Vol. 105. — N 1. — P. 46.
147. Maricq, A.V. Primary structure and functional expression of the 5-HT₃ receptor, a serotonin-gated ion channel / A.V. Maricq, A.S. Peterson, A.J. Brake, R.M. Meyers, D. Julius // *Science*. — 1991. — Vol. 254. — N 5030. — P. 432-437.
148. Markus, C.R. Dietary amino acids and brain serotonin function; implications for stress-related affective changes / C.R. Markus // *Neuromol. Med.* — 2008. — Vol. 10. — N 4. — P. 247-258.
149. Matrisciano, F. Changes in BDNF serum levels in patients with major depression disorder (MDD) after 6 months treatment with sertraline, escitalopram, or venlafaxine / F. Matrisciano, S. Bonaccorso, A. Ricciardi, S. Scaccianoce, I. Panaccione, L. Wang, A. Ruberto, R. Tatarelli, F. Nicoletti, P. Girardi, R.C. Shelton // *J. Psychiatr. Res.* — 2009. — Vol. 43. — N 3. — P. 247–254
150. McAllister, K. Neurotrophins and synaptic plasticity / K. McAllister, L.C. Katz, D.C. Lo // *Ann. Rev. Neurosci.* — 1999. — Vol. 22. — P. 295-318.

151. Menkes, D.B. Guanosine triphosphate activation of brain adenylate cyclase: Enhancement by long-term antidepressant treatment / D.B. Menkes, M.M. Rasenick, M.A. Wheeler, M.W. Bitensky // *Science*. — 1983. — Vol. 129. — N 4580. — P. 65-67.
152. Mirza, N.K. Serotonin transporter density and anxiolytic-like effects of antidepressants in mice / N.K. Mirza, E.O. Nielsen, K.B. Troelsen // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. — 2007. — Vol. 31. — N 4. — P. 858-866.
153. Molteni, R. Chronic treatment with fluoxetine up-regulates cellular BDNF mRNA expression in rat dopaminergic regions / R. Molteni, F. Calabrese, F. Bedogni, E. Tongiorgi, F. Fumagalli, G. Racagni, M.A. Riva // *Int J Neuropsychopharmacol.* — 2006. — Vol. 9. — N 3. — P. 307-317.
154. Monteggia, L.M. Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function / L.M. Monteggia, M. Barrot, C.M. Powell, O. Berton, V. Galanis, T. Gemelli, S. Meuth, A. Nagy, R.W. Greene, E.J. Nestler // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 2004. — Vol. 101. — N 29. — P. 10827–10832
155. Monteggia, L.M. Brain-derived neurotrophic factor conditional knockouts show gender differences in depression-related behaviors / L.M. Monteggia, B. Luikart, M. Barrot, D. Theobald, I. Malkovska, S. Nef, L.F. Parada, E.J. Nestler // *Biol. Psychiatry*. — 2007. — Vol. 61. — N 2. — P. 187–197
156. Moore, P. Clinical and physiological consequences of rapid tryptophan depletion / P. Moore, H.-P. Landolt, E. Seifritz, C. Clark, T. Bhatti, J. Kelsoe, M. Rapaport, J.C. Gillin // *Neuropsychopharmacology*. — 2000. — Vol. 23. — N 6. — P. 601-622.
157. Moret, C. Effect of antidepressant drugs on monoamine synthesis in brain in vivo / C. Moret, M. Briley // *Neuropharmacol.* — 1992. — Vol. 31. — N 7. — P. 679-684.
158. Morishima, M. Monoamine oxidase A activity and norepinephrine level in hippocampus determine hyperwheel running in sports rats / M. Morishima, N. Harada, S. Hara, A. Sano, H. Seno, A. Takahashi, Y. Morita, Y. Nakaya // *Neuropsychopharmacology*. — 2006. — Vol. 31. — N 12. — P. 2627-2638.
159. Myers, K.M. Mechanisms of fear extinction / K.M. Myers, M. Davis // *Mol. Psychiatry*. — 2007. — Vol. 12. — N 2. — P. 120-150.
160. Naumenko, V.S. The role of 5-HT_{2A} receptor and 5-HT_{2A}/5-HT_{1A} receptor interaction in the suppression of catalepsy / V.S. Naumenko, D.V. Bazovkina, E.M. Kondaurova, E.A. Zubkov, A.V. Kulikov // *Genes Brain Behav.* — 2010. — Vol. 9. — N 5. — P. 519-524.
161. Naumenko V.S. Effect of Brain- Derived Neurotrophic Factor on behavior and key members of the brain serotonin system in genetically predisposed to behavioral disorders mouse

- strains / V.S. Naumenko, E.M. Kondaurova, D.V. Bazovkina, A.S. Tsybko, M.A. Tikhonova, A.V. Kulikov, N.K. Popova // *Neuroscience*. — 2012. — Vol. 214. — P 59-67.
162. Nestler, E.J. Neurobiology of depression / E.J. Nestler, M. Barrot, R.J. DiLeone, A.J. Eisch, S.J. Gold, L.M. Monteggia // *Neuron*. — 2002. — Vol. 34. — N 1. — P. 13-25.
163. Nibuya, M. Regulation of BDNF and TrkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatment / M. Nibuya, A. Morinobu, R.S. Duman // *J. Neurosci*. — 1995. — Vol. 15. — N 11. — P. 7539-7547.
164. Nibuya, M. Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus / M. Nibuya, E.J. Nestler, R.S. Duman // *J. Neurosci*. — 1996. — Vol. 16. — N 7. — P. 2365-2372.
165. Niesler, B. Serotonin type 3 receptor genes: HTR3A, B, C, D, E / B. Niesler, J. Kapeller, C. Hammer, G. Rappold // *Pharmacogenomics*. — 2008. — Vol. 9. — N 5. — P. 501-504.
166. Olivier, B. Serotonin receptors and animal models of aggressive behavior / B. Olivier, J. Mos, R. van Oorschot, R. Hen // *Pharmacopsychiatry*. — 1995. — Vol. 2. — P. 80-90.
167. Ornstein, K. Pinch-induced catalepsy in mice / K. Ornstein, S. Amir // *J. Comp. Physiol. Psychol.* — 1981. — Vol. 95. — N 5. — P. 827-835.
168. Overstreet, D. H. Selective breeding for sensitivity to the anticholinesterase DFP / D. H. Overstreet, R. W. Russell, S. C. Helps, M. Messenger // *Psychopharmacol.* — 1979. — Vol. 65. — N 1. — P. 15-20.
169. Ozawa, H. Chronic electroconvulsive treatment augments coupling of the GTP-binding protein Gs to the catalytic moiety of adenylyl cyclase in a manner similar to that seen with chronic antidepressant drugs / H. Ozawa, M.M. Rasenick // *J. Neurochem.* — 1991. — Vol. 56. — N 1. — P. 330-338.
170. Pandey, G.N. Brain-derived neurotrophic factor gene and protein expression in pediatric and adult depressed subjects / G.N. Pandey, Y. Dwivedi, H.S. Rizavi, X. Ren, H. Zhang, M.N. Pavuluri // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. — 2010. — Vol. 34. — N 4. — P. 645–651
171. Pardridge, W.M. CNS drug design based on principles of blood-brain barrier transport / W.M. Pardridge // *J. Neurochem.* — 1998. — Vol. 70. — N 5. — P. 1781-1792.
172. Pariante, C.M. Pituitary volume in psychosis / C.M. Pariante, K. Vassilopoulou, D. Velakoulis, L. Phillips, B. Soulsby, S.J. Wood, W. Brewer, D.J. Smith, P. Dazzan, A.R. Yung, I.M. Zervas, G.N. Christodoulou, R. Murray, P.D. McGorry, C. Pantelis // *B. J. Psych.* — 2004. — Vol. 185. — P. 5-10.

173. Parikh, V. Olanzapine counteracts reduction of brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptors in rat hippocampus produced by haloperidol / V. Parikh, M.M. Khan, S.P. Mahadik // *Neurosci. Lett.* — 2004. — Vol. 356. — N 2. — P. 135-139.
174. Parks, C.L. Increased anxiety of mice lacking the serotonin_{1A} receptor / C.L. Parks, P.S. Robinson, E. Sibille, T. Shenk, M. Toth // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* — 1998. — Vol. 95. — N 18. — P. 10734-10739.
175. Pellow, S. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat / S. Pellow, P. Chopin, S.E. File, M. Briley // *J. Neurosci. Methods.* — 1985. — Vol. 14. — N 3. — P. 149-167.
176. Pillai, A. Erythropoietin prevents haloperidol treatment-induced neuronal apoptosis through regulation of BDNF / A. Pillai, K.M. Dhandapani, B.A. Pillai, A.V. Jr. Terry, S.P. Mahadik // *Neuropsychopharmacology.* — 2008. — Vol. 33. — N 8. — P. 1942-1951.
177. Pineyro, G. Autoregulation of serotonin neurons: Role in antidepressant drug action / G. Pineyro, P. Blier // *Pharmacol. Reviews.* — 1999. — Vol. 51. — N 3. — P. 533-591.
178. Popova, N.K. Brain serotonin in genetically defined defensive behavior. *Complex Brain Functions: Conceptual Advances in Russian Neuroscience* / N.K. Popova, editors R. Millar, A.M. Ivanitsky, P.M. Balaban — Harwood Press — 1999. — P.307-329.
179. Popova, N.K. From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system / N.K. Popova // *BioEssays.* — 2006. — Vol. 28. — N 5. — P. 495-503.
180. Popova, N.K. 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} serotonin receptors differentially modulate mouse sexual arousal and the hypothalamo-pituitary-testicular response to the presence of a female / N.K. Popova, T.G. Amstislavskaya // *Neuroendocrinol.* — 2002a. — Vol. 76. — N 1. — P. 28-34.
181. Popova, N.K. Involvement of the 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} serotonergic receptor subtypes in sexual arousal in male mice / N.K. Popova, T.G. Amstislavskaya // *Psychoneuroendocrinol.* — 2002b. — Vol. 27. — N 5. — P. 609-618.
182. Popova, N.K. Receptor-genes cross-talk: effect of chronic 5-HT(1A) agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin treatment on the expression of key genes in brain serotonin system and on behavior / N.K. Popova, V.S. Naumenko, A.S. Cybko, D.V. Bazovkina // *Neuroscience.* — 2010. — Vol. 169. — N 1. — P. 229-235.
183. Porsolt, R.D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, M. Le Pichon, M. Jalfre // *Nature.* — 1977. — Vol. 266. — N 5604. — P. 730-732.

184. Prut, L. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review / L. Prut, C. Belzung // *Eur. J. Pharmacol.* — 2003. — Vol. 463. — N 1-3. — P. 3-33.
185. Qu, Y. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of norfluoxetine in rats: increasing extracellular serotonin level in the frontal cortex / Y. Qu, L. Aluisio, B. Lord, J. Boggs, K. Hoey, C. Mazur, T. Lovenberg // *Prarmacol. Biochem. Behav.* — 2009. — Vol. 92. — N 3. — P. 469-473.
186. Russo-Neustadt, A.A. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant activity / A.A. Russo-Neustadt, M.J. Chen // *Curr. Pharm. Des.* — 2005. — Vol. 11. — N 12. — P. 1495-1510.
187. Saarelainen, T. Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant induced behavioral effects / T. Saarelainen, P. Hendolin, G. Lucas, E. Koponen, M. Sairanen, E. MacDonald, K. Agerman, A. Haapasalo, H. Nawa, R. Aloyz, P. Ernfors, E. Castreñ / *J. Neurosci.* — 2003. — Vol. 23. — N 1. — P. 349-357
188. Sanberg, P.R. The catalepsy test: Its ups and downs / P.R. Sanberg, M.D. Bunsey, M. Giordano, A.B. Norman // *Behav. Neurosci.* — 1988. — Vol. 102. — N 5. — P. 748-759.
189. Sato, R. Efficient synthesis and biological properties of new benzopentathiepins / R. Sato, T. Ohyama, S. Ogawa // *Heterocycles.* — 1995. — Vol. 41. — N 5. — P. 893.
190. Saudou, F. 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes: Molecular and functional diversity / F. Saudou, R. Hen // *Adv. In Pharmacol.* — 1994. — Vol. 30. — P. 327-380.
191. Savelieva, K.V. Genetic disruption of both tryptophan hydroxylase genes dramatically reduced serotonin and affect behavior in models sensitive to antidepressants / K.V. Savelieva, S. Zhao, V.M. Pogorelov, I. Rajan, Q. Yang, E. Cullinan, T.H. Lanthorn // *PLoS ONE.* — 2008. — Vol. 3. — N 10. — P. e3301.
192. Savitz, J. 5-HT_{1A} receptor function in major depressive disorder / J. Savitz, I. Lucki, W.C. Drevets // *Prog. Neurobiol.* — 2009. — Vol. 88. — N 1. — P. 17-33.
193. Schechter, L.E. Innovative approaches for the development of antidepressant drugs: current and future strategies / L.E. Schechter, R.H. Ring, C.E. Beyer, Z.A. Hughes, X. Khawaja, J.E. Malberg, S. Rosenzweig-Lipson // *NeuroRx.* — 2005. — Vol. 2. — N 4. — P. 590-611.
194. Schulman, H. Intracellular Signaling. Fundamental neuroscience. / H. Schulman, J.L. Robertz, editors L.R. Squire, F.E. Bloom, S.K. McConnell, J.L. Roberts, N.C. Spitzer, M.J. Zigmond — Academic Press. — 2003. — P.259-298.

195. Schwartz, P.M. Abnormal cerebellar development and foliation in BDNF^{-/-} mice reveals a role for neurotrophins in CNS patterning / P.M. Schwartz, P.R. Borghesani, R.L. Levy, S.L. Pomeroy, R.A. Segal // *Neuron*. — 1997. — Vol. 19. — N 2. — P. 269-281.
196. Schweitzer, I. Structural neuroimaging studies in late-life depression: a review / I. Schweitzer, V. Tuckwell, D. Ames, J. O'Brien // *World. J. Biol. Psychiatry*. — 2001. — Vol. 2. — N 2. — P. 83-88.
197. Segal, R.A. Selectivity in neurotrophin signaling: theme and variations / R.A. Segal // *Annu. Rev. Neurosci.* — 2003. — Vol. 26. — P. 299-330.
198. Sergeant, A.B. Death feigning by ducks in response to predation by red foxes (*Vulpes fulva*) / A.B. Sergeant, L.E. Eberhardt // *Am. Midland Natur.* — 1975. — Vol. 94. — N 1. — P. 108-109.
199. Shih, J.C. Monoamine oxidase in neuropsychiatry and behavior / J.C. Shih, R.F. Thompson // *Am. J. Hum. Genet.* — 1999. — Vol. 65. — N 3. — P. 593-598.
200. Shirayama, Y. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression / Y. Shirayama, A.C. Chen, S. Nakagawa, D.S. Russell, R.S. Duman // *J. Neurosci.* — 2002. — Vol. 22. — N 8. — P. 3251-3261
201. Singerman, B. Malignant catatonia – a continuing reality / B. Singerman, R. Raheja // *Ann. Clin. Psychiatry*. — 1994. — Vol. 6. — N 4. — P. 259-266.
202. Sirianni, R.W. The behavioral and biochemical effects of BDNF containing polymers implanted in the hippocampus of rats / R.W. Sirianni, P. Olausson, A.S. Chiu, J.R. Taylor, W.M. Saltzman // *Brain. Res.* — 2010. — Vol. 1321. — P. 40-50
203. Siuciak, J.A. Antidepressant-like effect of brain derived neurotrophic factor (BDNF) / J.A. Siuciak, D.R. Lewis, S.J. Wiegand, R.M. Lindsay // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 1997. — Vol. 56. — N 1. — P. 131-137
204. Smith, M.A. Stress and antidepressants differentially regulate neurotrophin 3 mRNA expression in the locus coeruleus / M.A. Smith, S. Makino, M. Altemus, D. Michelson, S.-K. Hong, R. Kvetnansky, R.M. Post // *PNAS USA*. — 1995. — Vol. 92. — N 19. — P. 8788-8792.
205. Smolders, I. Direct enhancement of hippocampal dopamine or serotonin levels as a pharmacodynamic measure of combined antidepressant-anticonvulsant action / I. Smolders, R. Clinckers, A. Meurs, D. De Bundel, J. Portelli, G. Ebinger, Y. Michotte // *Neuropharmacol.* — 2008. — Vol. 54. — N 6. — P. 1017-1028.

206. Stery, L. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice / L. Stery, R. Chermat, B. Thierry, P. Simon // *Psychopharmacology*. — 1985. — Vol. 85. — N 3. — P. 367-370.
207. Tecott, L.H. Mouse genetic approaches to feeding regulation: serotonin 5-HT_{2C} receptor mutant mice / L.H. Tecott, L. Abdallah // *CNS Spectr*. — 2003. — Vol. 8. — N 8. — P. 584-588.
208. Thome, J. cAMP response element-mediated gene transcription is upregulated by chronic antidepressant treatment / J. Thome, N. Sakai, K.-H. Shin, C. Steffen, Y.-J. Zhang, S. Impey, D. Storm, R.S. Duman // *J. Neurosci*. — 2000. — Vol. 20. — N 11. — P. 4030-4036.
209. Thompson, A.J. 5-HT₃ receptors / A.J. Thompson, S.C. Lummis // *Curr Pharm. Des*. — 2006. — Vol. 12. — N 28. — P. 3615-3630.
210. Thompson, A.J. The 5-HT₃ receptor as a therapeutic target / A.J. Thompson, S.C. Lummis // *Expert. Opin. Ther. Targets*. — 2007. — Vol. 11. — N 4. — P. 527-540.
211. Tikhonova M.A. Hereditary catalepsy in mice is associated with the brain dysmorphology and altered stress response / M.A. Tikhonova, A.V. Kulikov, D.V. Bazovkina, E.A. Kulikova, A.S. Tsybko, E.Y. Bazhenova, V.S. Naumenko, A.E. Akulov, M.P. Moshkin, N.K. Popova // *Behav Brain Res*. — 2013. — Vol.243. — P.53-60.
212. Tikhonova, M.A. Antidepressant-like effects of central BDNF administration in mice of Antidepressant Sensitive Catalepsy (ASC) Strain / M.A. Tikhonova, A.V. Kulikov, D.V. Bazovkina, M.V. Morozova, V.S. Naumenko, N.K. Popova // *Chin. J. Physiol*. — 2012. — Vol. 55. — N 4. — P. 284-293.
213. Vaidya, V.A. 5-HT_{2A} receptor-mediated regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the hippocampus and the neocortex / V.A. Vaidya, G.J. Marek, G.K. Aghajanian, R.S. Duman // *J. Neurosci*. — 1997. — Vol. 17. — N 8. — P. 2785-2795.
214. Van Praag, H.M. Can stress cause depression? / H.M. Van Praag // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. — 2004. — Vol. 28. — N 5. — P. 891-907.
215. Vander-Wende, C. Morphine-induced catalepsy in mice: modification by drugs acting on neurotransmitter systems / C. Vander-Wende, M.T. Spoerlein // *Neuropharmacol*. — 1979. — Vol. 18. — N 7. — P. 633-637.
216. Walther D. A unique central tryptophan hydroxylase isoform / D. Walther, M. Bader // *Bioche. Pharmacol*. — 2003. — Vol. 66. — N 9. — P. 1673-1680.

217. Walther, D.J. Synthesis of serotonin by a second thryptophan hydroxylase isoform / D.J. Walther, J.-U. Peter, S. Bashammakh, H. Hortnagl, M. Voits, H. Fink, M. Bader // *Science*. — 2003. — Vol. 299. — N 5603. — P. 76.
218. Wellman, C.L. Impaired stress-coping and fear extinction and abnormal corticolimbic morphology in serotonin transporter knock-out mice / C.L. Wellman, A. Izquierdo, J.E. Garrett, K.P. Martin, J. Carroll, R. Millstein, K.P. Lesch, D.L. Murphy, A. Holmes // *J Neurosci*. — 2007. — Vol. 27. — N 3. — P. 684-691.
219. Wiesmann C. Nerve growth factor: structure and function / C. Wiesmann, A.M. de Vos // *Cell Mol. Life Sci*. — 2001. — Vol. 58. — N 5-6 . — P. 748-759.
220. Willner, P. Animal models of depression: an overview / P. Willner // *Pharmacol. Ther.* — 1990. — Vol. 45. — N 3. — P. 425-455.
221. Willner, P. The validity of animal models of predisposition to depression / P. Willner, P.J. Mitchell // *Behav. Pharmacol.* — 2002. — Vol. 13. — N 3. — P. 169–188.
222. Worms, P. SR 95191, a selective inhibitor of type A monoamine oxidase with dopaminergic properties. I. Psychopharmacological profile in rodents / P. Worms, J.P. Kan, C.G. Wermuth, R. Roncucci, K. Biziere // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1987. — Vol. 240. — N 1. — P. 241-250.
223. Yacoubi, E.M. Behavioral, neurochemical, and electrophysiological characterization of a genetic mouse model of depression / E.M. Yacoubi, S. Bouali, D. Popa, L. Naudon, I. Leroux-Nicollet, M. Hamon, J. Costentin, J. Adrien, J.M. Vaugeois // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* — 2003. — Vol. 100. — N 10. — P. 6227-6232.
224. Yacoubi M.El., Vaugeois J.-M. Genetic rodent models of depression / M.El. Yacoubi, J.-M. Vaugeois // *Curr. Opinion in Pharmacol.* — 2007. — Vol. 7. — N 1. — P. 3-5.
225. Zienowicz, M. Fluoxetine-induced anxiety and nervousness / M. Zienowicz, A. Wisniewska-Stanek, M. Lrhner, E. Taracha, P. Maciejak, A. Sobolewska, J. Szyndler, D. Turzynskis, J. Walkowiak, A. Plaznik // *Pharmacol. Rep.* — 2006. — Vol. 58. — N 1. — P. 115–119.
226. Zifa, E. 5-Hydroxytryptamine receptors / E. Zifa, G. Fillion // *Pharmacol. Rev.* — 1992. — Vol. 44. — N 3. — P. 401-458.