

Молекулярные механизмы регуляции  
поведения  
Лекция 8  
Молекулы и поведение

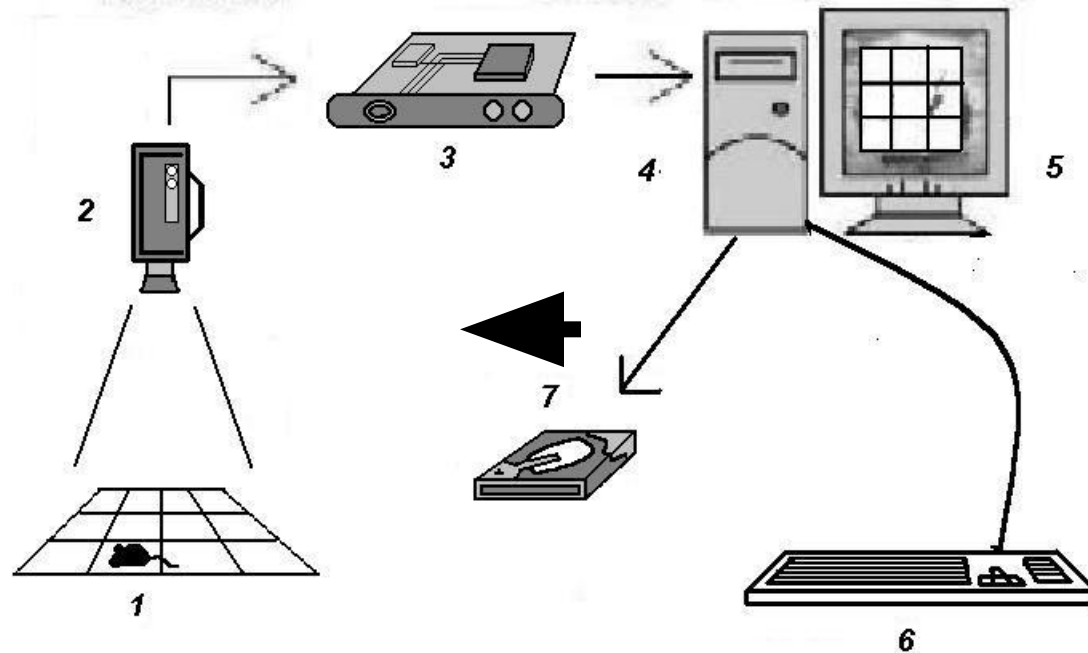
# Измерение поведения

- Правильный выбор признака обеспечивает успех выяснения его молекулярной организации.
- Определение признака должно быть конструктивным .
- Необходим метод однозначного и объективного измерения выраженности признака.
- Признак должен быть стабильным и мало зависеть от неконтролируемых условий.
- Молекулярный механизм признака должен быть простым - включать небольшое число ключевых звеньев.

## Двигательная активность и время нахождения в областях арены

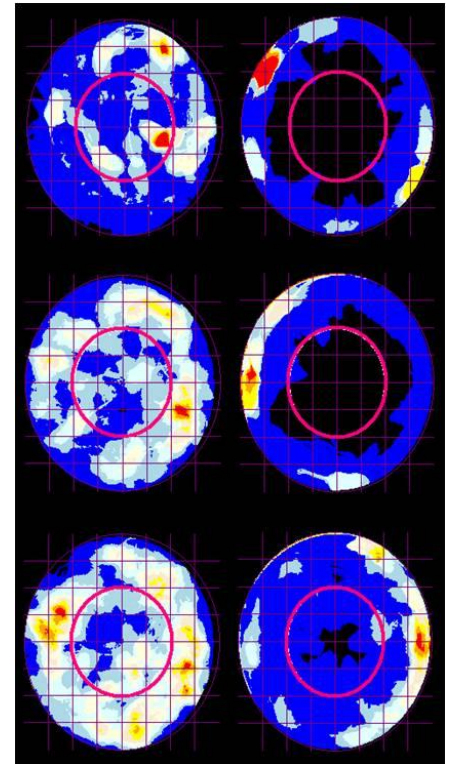
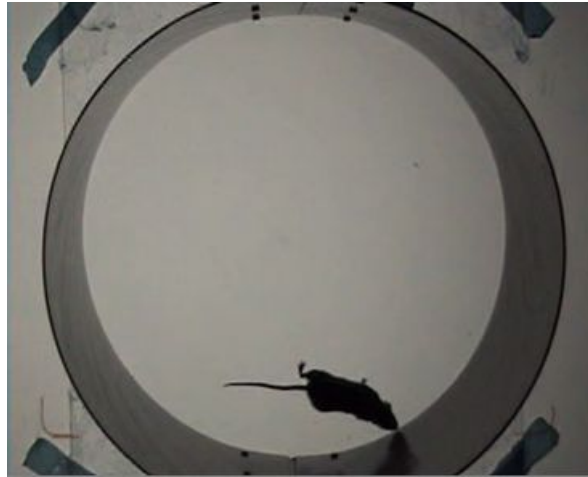
- Измерение двигательной активности и времени нахождения животного в различных участках арены (например в центре) является необходимым элементом оценки любого поведенческого признака.
- Существуют визуальные и автоматические методы измерения движения.
- Наиболее точной и универсальной являются компьютерная трассировка перемещения животного. Создателем ее является Л. Нолдус (EthoVision).

# EthoStudio



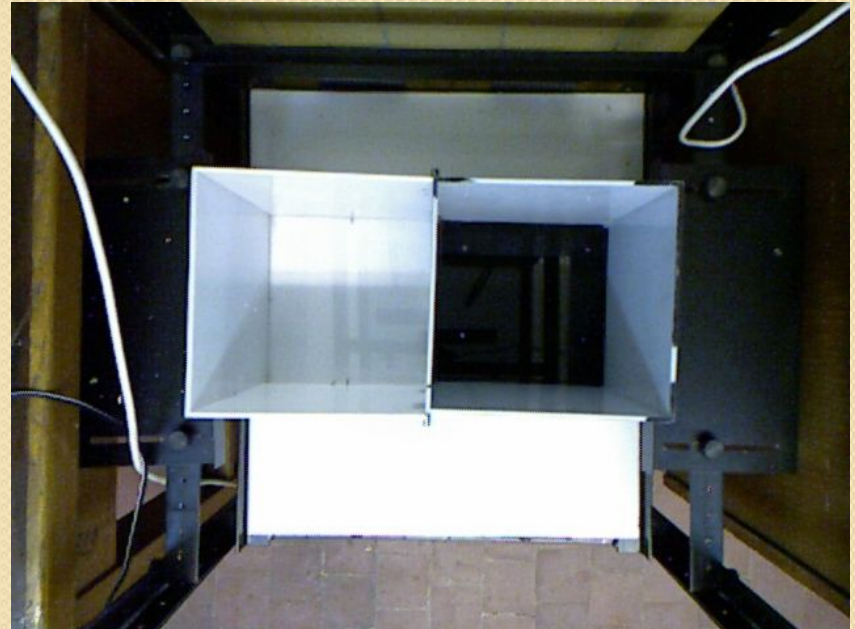
- Установка включает арену, видеокамеру, компьютер и клавиатуру.
- Изображение арены захватывается видеокамерой с частотой 10-25 к/с, оцифровывается, передается в память компьютера и сохраняется на диске.
- Проводится покадровый компьютерный анализ положения животного в координатах арены.

# Тест открытое поле



- Лабораторные грызуны (мыши и крысы) имеют врожденный страх перед открытым и ярко освещенным пространством.
- Путь, пройденный геометрическим центром животного.
- Время нахождения животного в выделенных областях арены.

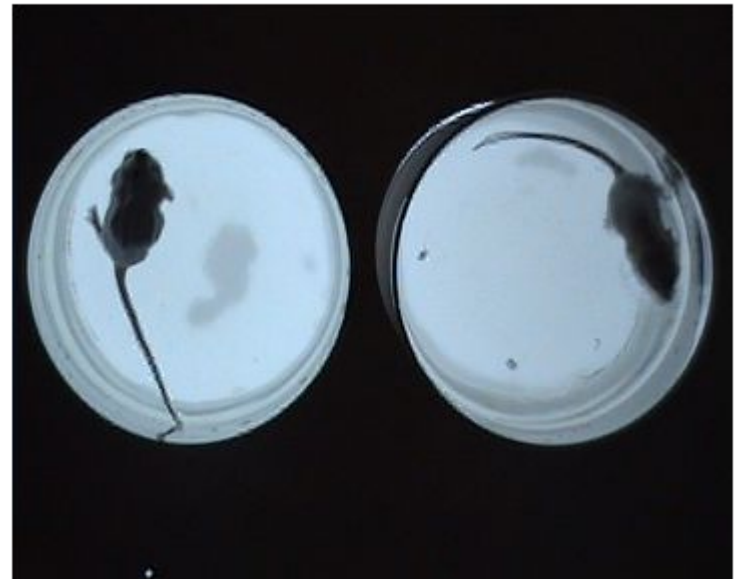
# Измерение тревожности



- Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» - мыши и крысы избегают открытых и небезопасных рукавов.
- Тест «свет/темнота» - мыши и крысы предпочитают затемненную половину.

# Тест принудительного плавания

- Предложенный в 1977 г. этот тест является самым распространенным методом оценки антидепрессантной активности (Tecott, 2003).
- Основным параметром является время неподвижности животного, помещенного в сосуд с водой.



## Омический подход к исследованию молекулярного механизма поведения

- Основан на логически обоснованной и очевидной идеи, что поведение можно абсолютно точно описать с помощью описания всех молекулярных изменений в каждой клетке организма.
- При омическом подходе отпадает необходимость в интерпретациях и гипотезах, результат будет получен весь и сразу.



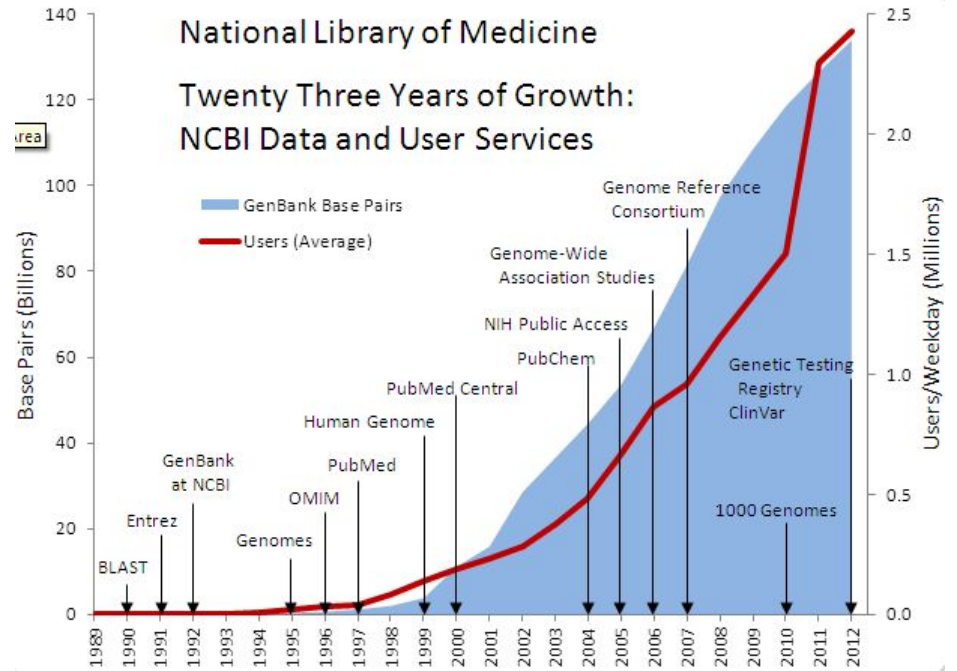
# Доктрина полигенной регуляции

## Biometrical Genetics

*Sir Kenneth Mather FRS  
John L. Jinks FRS*

*Third Edition*

- Предложена в 1949 Kenneth Mather и John Jinks. Постулирует, что
- 1) сложный количественный признак контролируется большим количеством полигенов, возможно всем геномом;
- 2) один полиген оказывает слабое влияние на признак;
- 3) один полиген может контролировать плеiotропно несколько признаков;
- 4) факторы среды могут модифицировать действия полигенов;
- 5) возможно существование одного гена или нескольких генов с более выраженным эффектом на признак.



# Классификация мутаций

По  
структуре:

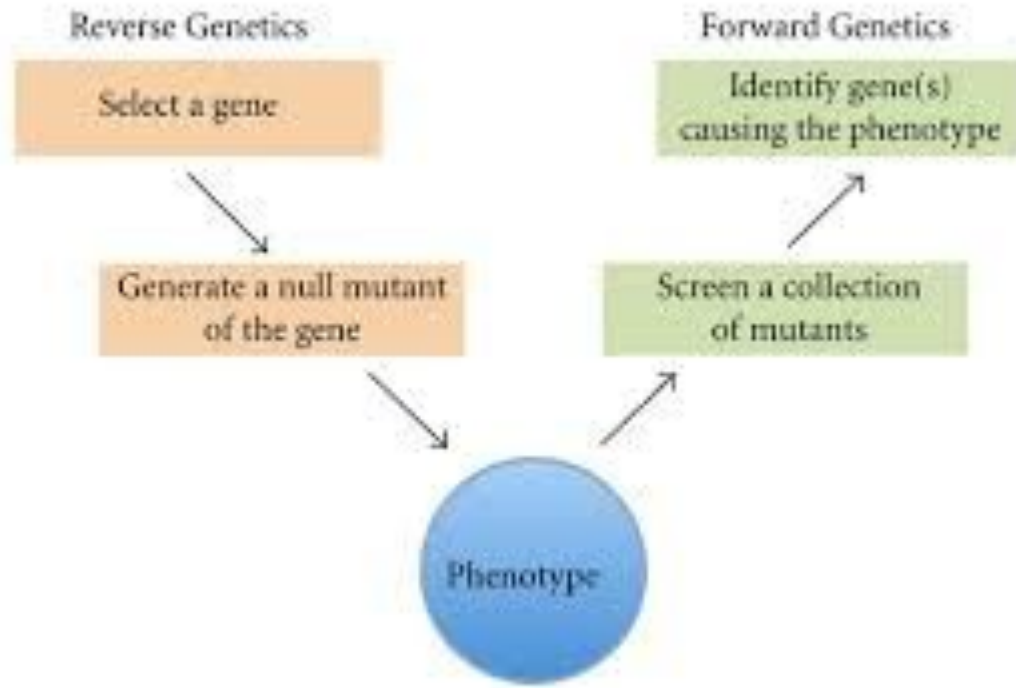
Single nucleotide variant	ATTGGCCTTAACCCCGGATTATCAGGAT ATTGGCCTTAACCCCGGATTATCAGGAT
Insertion-deletion variant	ATTGGCCTTAACCCCGATTCCGATTATCAGGAT ATTGGCCTTAACCC---CCGATTATCAGGAT
Block substitution	ATTGGCCTTAACCCCGATTATCAGGAT ATTGGCCTTAACAGTGGATTATCAGGAT
Inversion variant	ATTGGCCTTAACCCCGATTATCAGGAT ATTGGCCTTCCGGGGTTATTATCAGGAT
Copy number variant	ATTGGCCTTAAGCCCTTAACCCCGATTATCAGGAT ATTGGCCTTA-----ACCTCCGATTATCAGGAT

(Frazer et al., Nat Rev Genet 2009, 10:241-251)

По действию:

1. функциональные
2. нейтральные

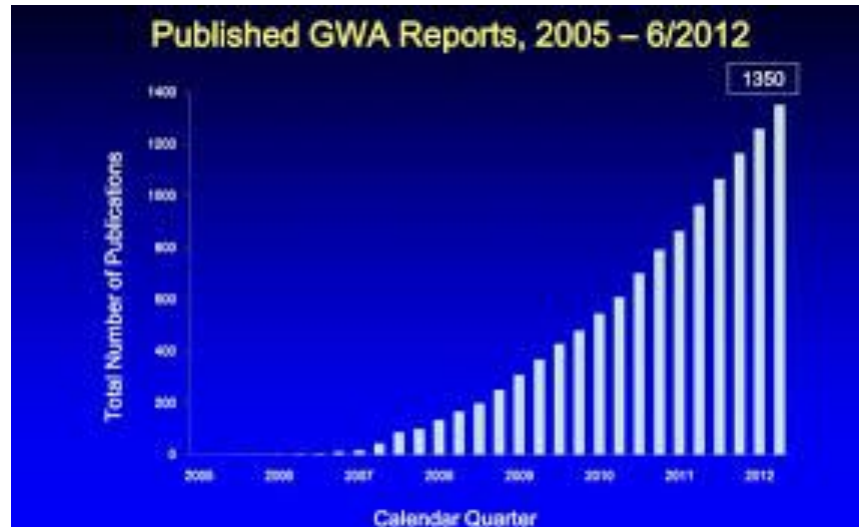
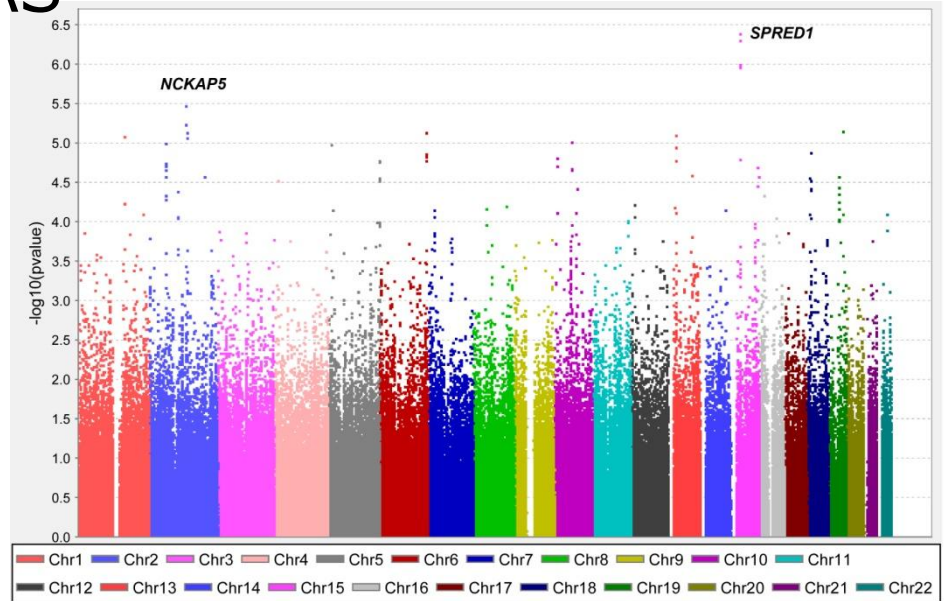
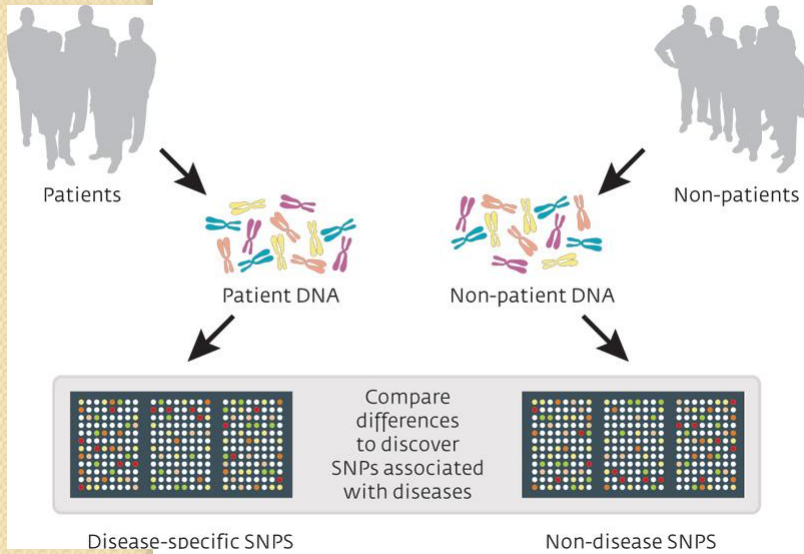
# Стратегии изучения генетической структуры поведения



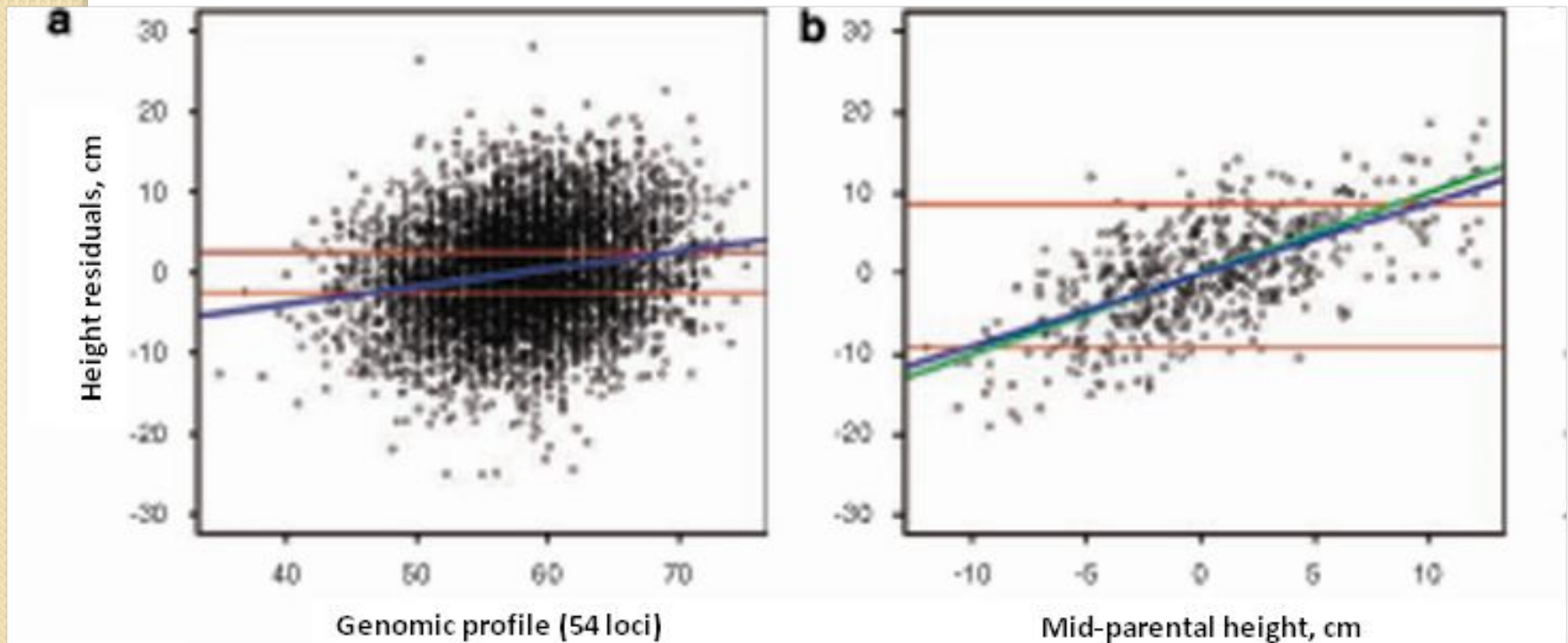
- Reversed genetics:
1. Null mutations
  2. Point mutations

- Forward genetics:
1. GWAS
  2. QTL analysis

# Техника GWAS



# Потерянная наследственность



(a) Prediction with the genomic profile constructed from 54 loci, (b) Galtonian prediction using mid-parental height values

(Aulchenko et al.,  
2009)

# QTL анализ поведения

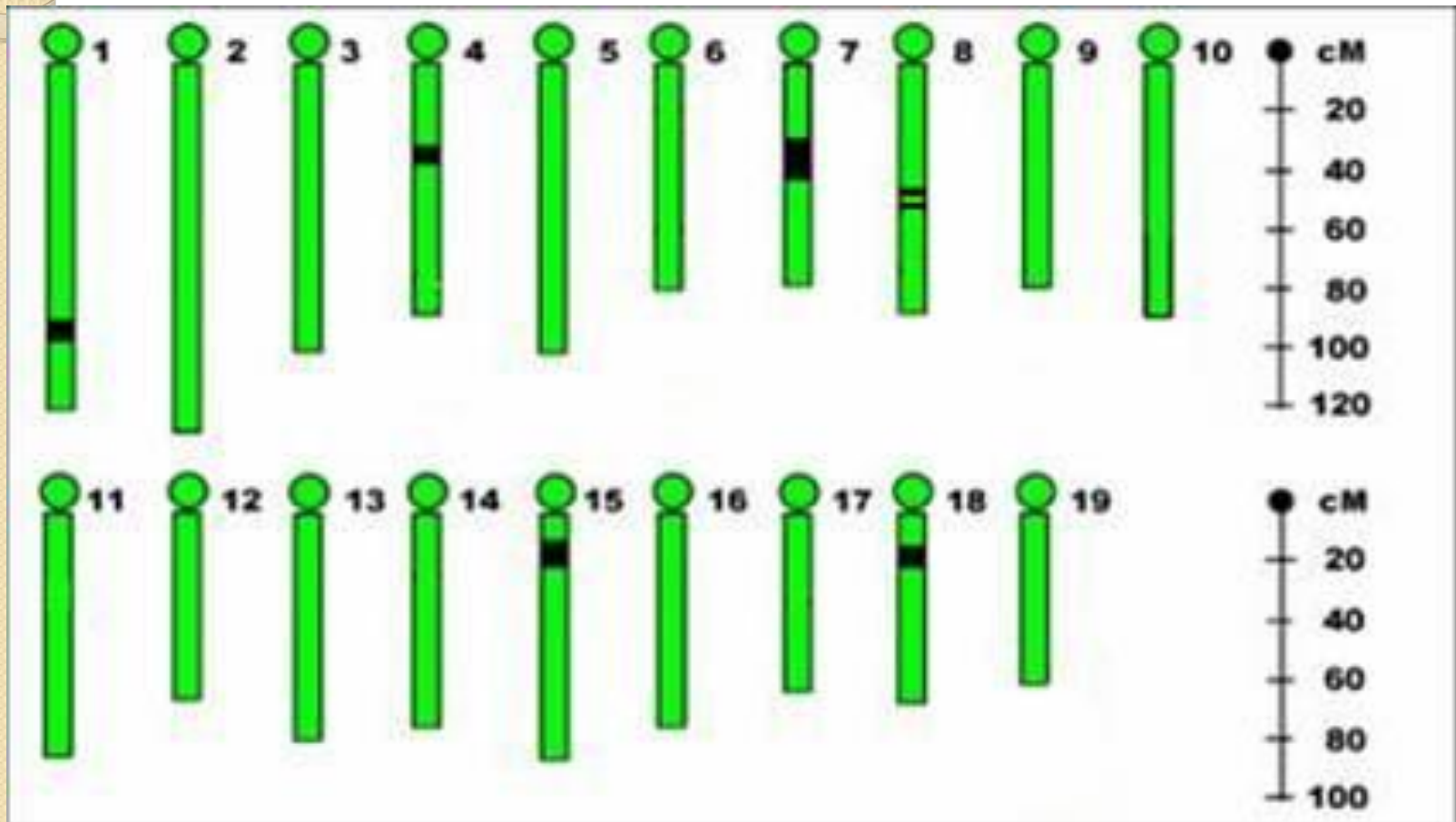
- Самый распространенный и мощный метод генетического картирования сложных признаков.
- Основан на измерении сцепления признака с серией полиморфных микросателлитов, покрывающих геном.
- QTL - область генома с высоким сцеплением анализируемого признака.
- Нейрогены, локализованные в QTL, рассматриваются как гены-кандидаты.

## QTL анализ. Двигательная активность

- Моторная активность лежит в основе любого поведенческого акта.
- Два вида нарушений моторной активности : акинезия/гиперкинезия и дискинезия.
- Дискинезия связана с нарушениями координаций движения, которые проявляются в виде тиков, тремора, танцующих движений, кататонии и стереотипии.



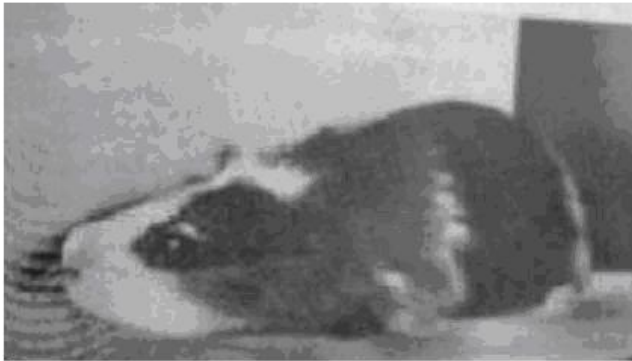
# Гены, определяющие двигательную активность мышцы в открытом поле



# Каталепсия



А



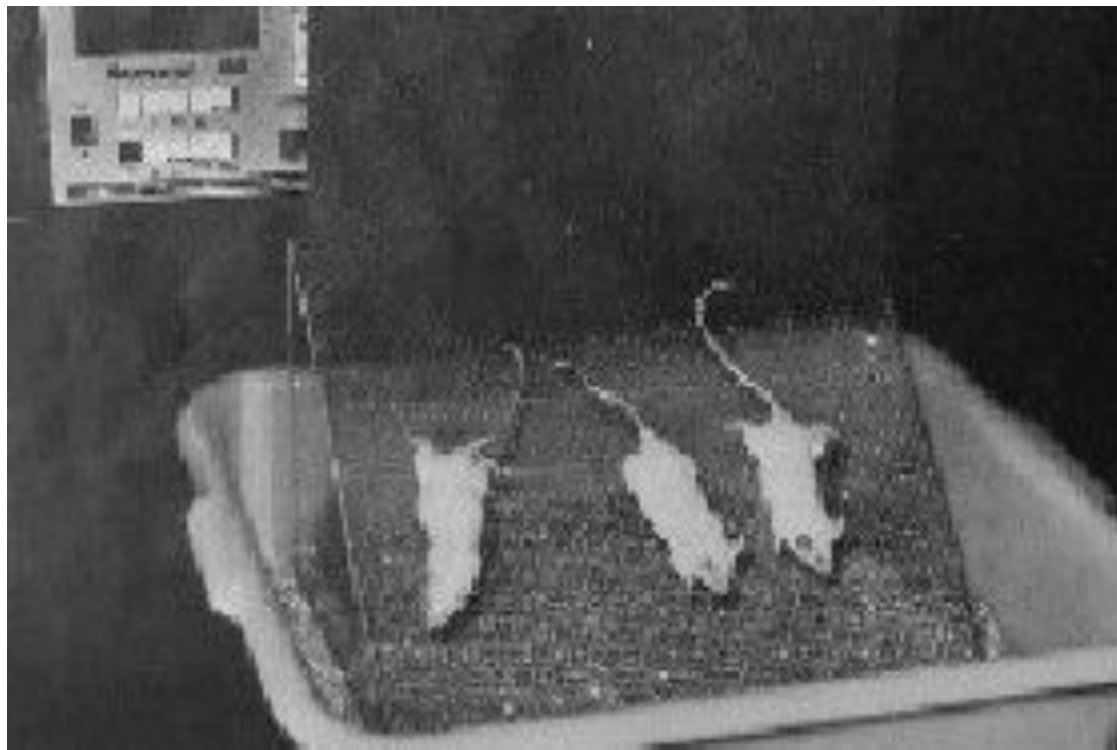
Б



В

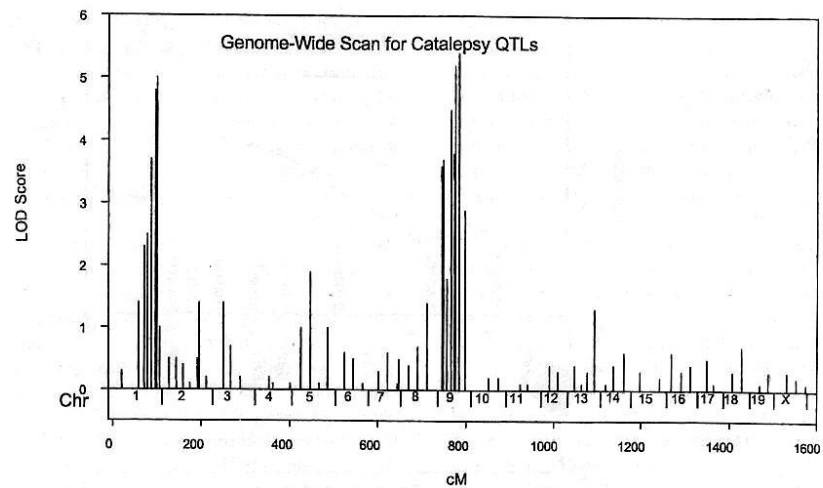
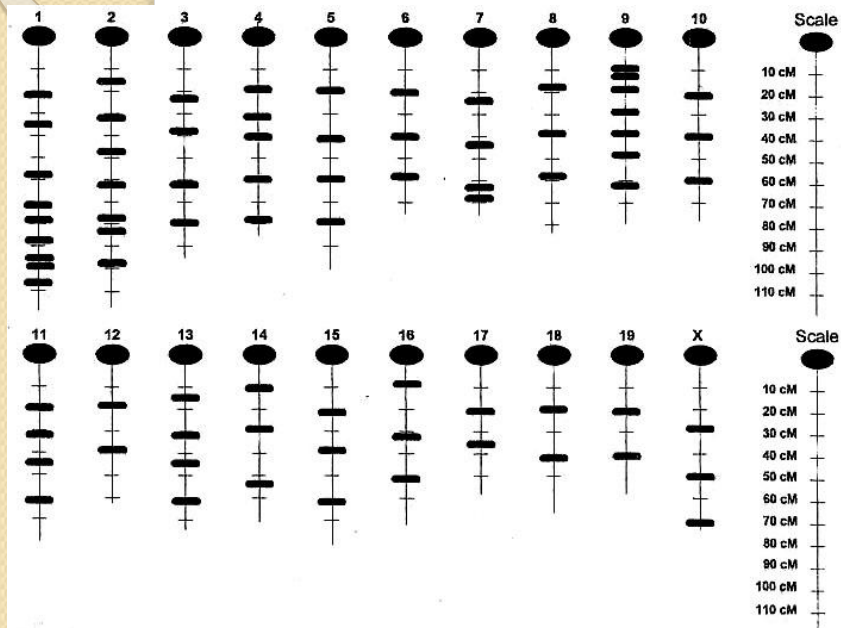
- Каталепсия – длительная неподвижность с повышенным тонусом гравитационной мускулатуры, способность сохранять приданную неудобную позу длительное время.

# Галоперидоловая каталепсия

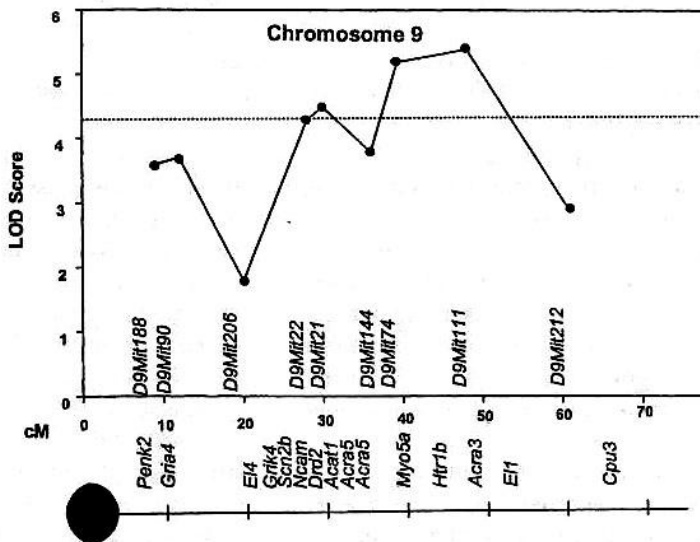
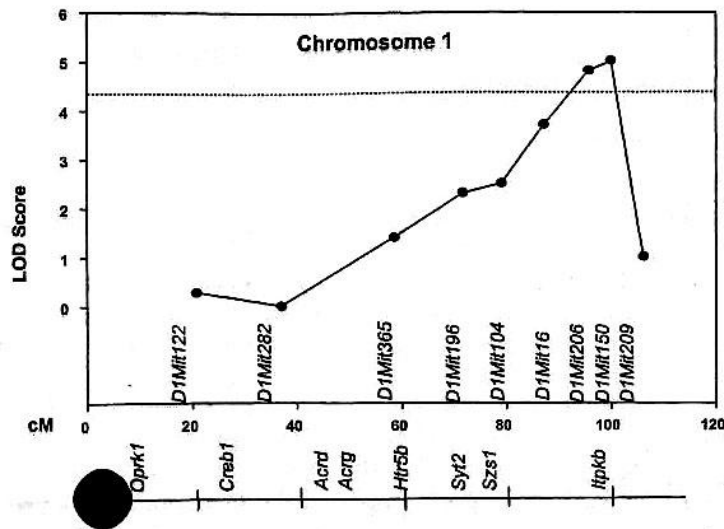


- Галоперидол – наиболее мощный антагонист  $D_2$  рецепторов.
- Препарат вызывает глубокую каталепсию.
- Галоперидоловая каталепсия – модель вызванного нейролептиками расстройства экстрапирамидной функции

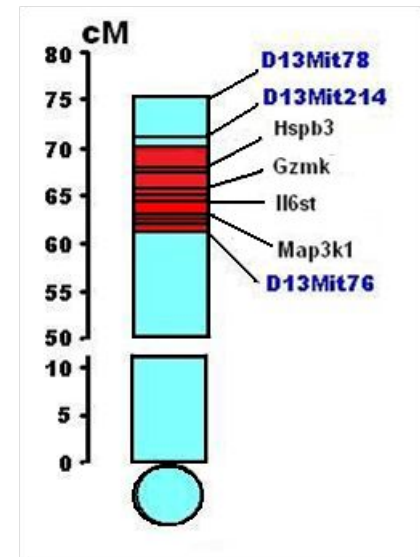
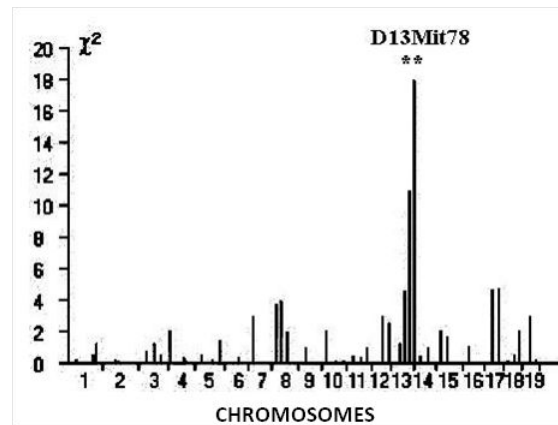
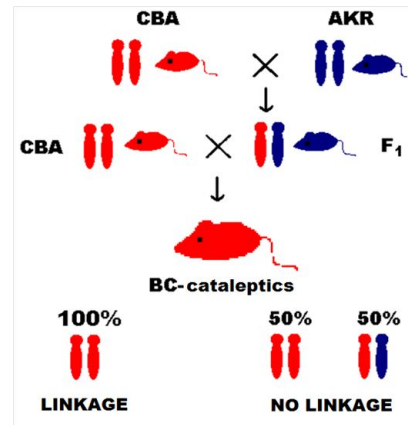
# Геномное картирование чувствительности к галоперидолу у мышей



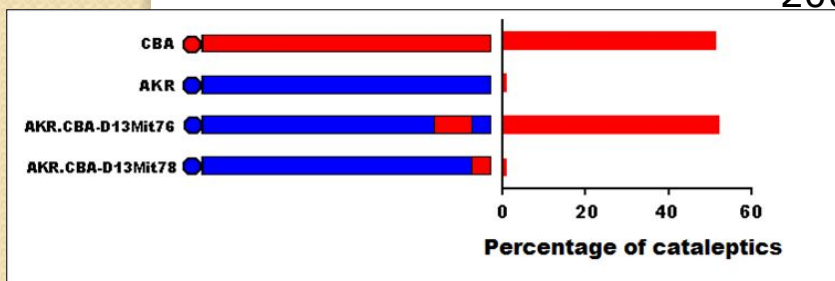
# Интервальное картирование чувствительности к галоперидолу на хромосомах 1 и 9



# QTL analysis каталепсии у мышей



(Куликов и др., ДАН, 2003)



(Kulikov et al., 2008)

# Forward genetics.

## Заключение

### COMMENT

**VISUALIZATION** Lavish lab guide lays out steps to making images that wow p430

**ART** Infrared analysis shows Albrecht Dürer worked less on pictures destined for sale p431

**PUBLISHER** Ethics procedures should be required in papers, like other methods p432

**FUNDING** Patients' priorities for schizophrenia research get UK support p432



## Face up to false positives

Scientists and journals must work together to ensure that eye-catching artefacts are not trumpeted as genomic insights, says Daniel MacArthur.

When a study of the genomes of centenarians reported genetic variants strongly associated with exceptional longevity<sup>1</sup>, it received widespread media and public interest. It also provoked an immediate sceptical response from other geneticists. That individual genetic variants should have such large effects on a complex human trait was totally unexpected. As it turned out, at least some of the results from this study were surprising simply because they were wrong. In a retraction published a year later<sup>2</sup>, the authors admitted to “technical errors” and “an inadequate quality control protocol”. The work was later republished

in a different journal after heavy revision<sup>3</sup>. Few principles are more depressingly familiar to the veteran scientist: the more surprising a result seems to be, the less likely it is to be true. We cannot know whether, or why, this principle was overlooked in any specific study. However, more generally, in a world in which unexpected results can lead to high-impact publication, acclaim and headlines in *The New York Times*, it is easy to understand how there might be an overwhelming temptation to move from discovery to manuscript submission without performing the necessary data checks. In fact, it has never been easier to generate high-impact false positives than in the

genomic era, in which massive, complex biological data sets are cheap and widely available. To be clear, the majority of genome-scale experiments yield real results, many of which would be impossible to uncover through targeted hypothesis-driven studies. However, hunting for biological surprises without due caution can easily yield a rich crop of biases and experimental artefacts, and lead to high-impact papers built on nothing more than systematic experimental noise. Flawed papers cause harm beyond their authors: they trigger futile projects, stalling the careers of graduate students and postdocs, and they degrade the reputation of genomic research. To minimize the ▶

1. Позволяет получить список возможных генов-кандидатов.
2. Не позволяет изучать взаимодействие между генами.
3. Высокий риск ложных позитивов.
4. Результаты forward genetics должны быть подтверждены reversed genetics.

(Daniel MacArthur, *Nature*, 2012, 487:427-428)

# Научный подход

- Основой современного естествознания служит экспериментальный метод.
- С древних времен и до XVI века в науке господствовал догматический метод, который отрицал индукцию как способ познания. Познание возможно только дедуктивным развитием исходных положений.
- Ф. Бэкон критиковал догматический метод и пытался заменить его эмпирическим – первым ввел понятие эксперимента. В его представлениях была недооценка роли дедукции.
- Г. Галилей первым сделал попытку объединить дедуктивный и эмпирический подходы. Он впервые использовал эксперимент для проверки теоретических положений.
- К. Попер завершил это объединение и создал современную теорию научного познания.
- Р. Фишер, Ю. Ньюман и Э. Пирсон ввели статистическую проверку гипотез.



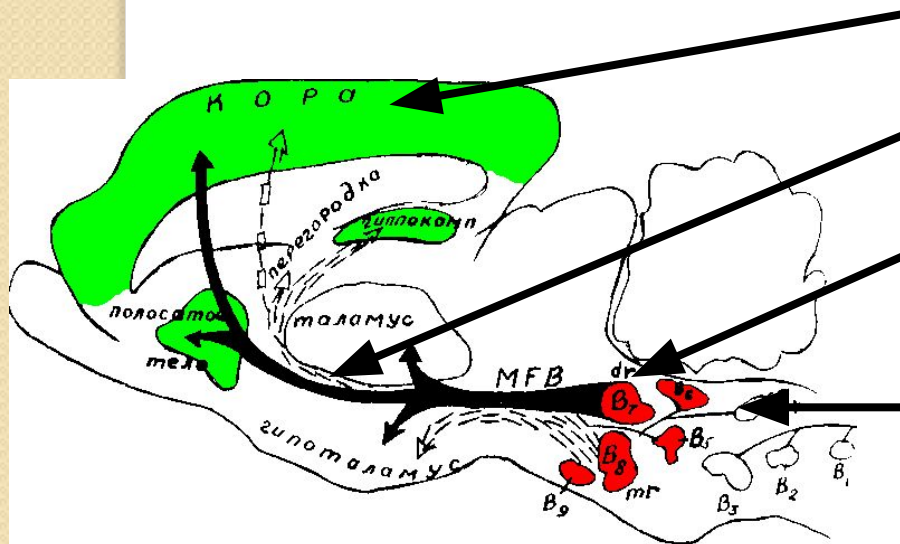
# Связь между поведением и молекулами

- Между поведением и молекулами имеется сигнальная связь, сформированная в ходе процесса эволюции.
- Системы молекулярных механизмов регулирующих поведение максимально вырожденные. Имеется избыточность и существует множество дублирующих механизмов.
- Плейротропия - одна и та же молекулярная система участвует в регуляции многих форм поведения.
- Полигения - любая форма поведения регулируется многими генами если не всем геномом.

# Разнообразие методов и подходов нейрогеномики поведения

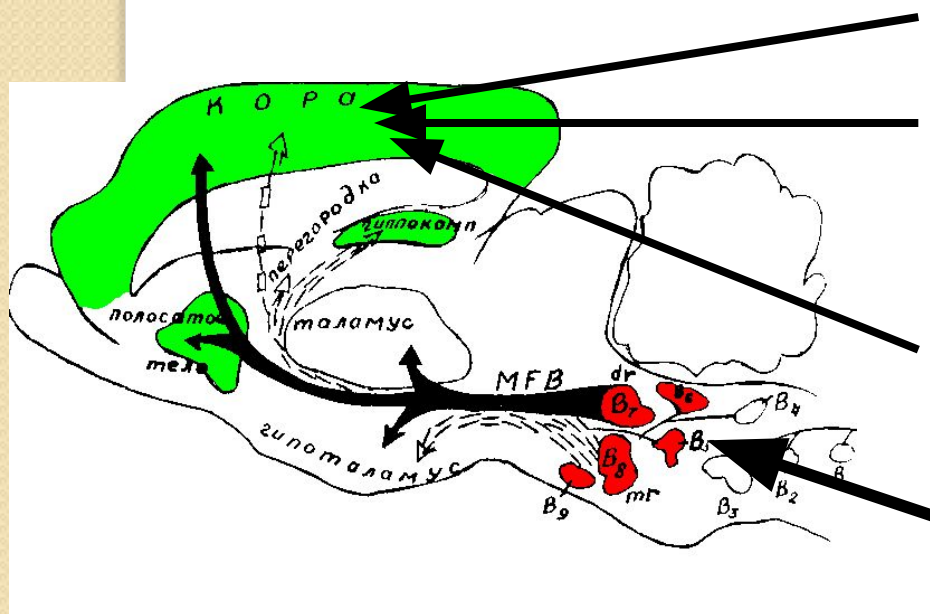
- Фармакологические методы:
- Изменение концентрации медиаторов (снижение или повышение с помощью фармакологических методов или введением экспрессирующихся векторов).
- Воздействие на рецепторы медиаторов (введением агонистов или антагонистов или изменение уровня рецепторов с помощью экспрессирующихся векторов)
- Нейрохимические методы:
- Измерение нейрохимических показателей.
- Изучение секреции медиаторов.
- Методы обратной генетики:
- Изучение генов-кандидатов
- Трансгенные и нокаутные мыши.

# Фармакологические методы: Уменьшение концентрации медиатора



- Разрушение окончаний (нейротоксины).
- Опустошение везикул (моноамины).
- Разрушение тел нейронов. (не применимо для ацетилхолина, глутамата и ГАМК).
- Ингибирование ключевых ферментов синтеза медиатора.

# Увеличение концентрации медиатора



- Ингибирование ферментов разрушения.
- Введение релизеров, усиливающих секрецию медиатора (амфетамин, d-фенфлурамин).
- Ингибирование обратного захвата медиатора.
- Добавление метаболического предшественника.

# Фармакология рецепторов

- Основная информация о роли медиаторов в регуляции поведения получена при введении веществ действующих на рецепторы.
- Лиганд – соединение, специфически связывающееся с рецептором ( $K_d < 10^{-8}$  M).
- Селективность определяется сравнением  $K_d$  для различных рецепторов.
- Агонисты – соединения, активирующие рецепторы.
- Антагонисты – соединения, ингибирующие рецепторы.

# Введение препаратов

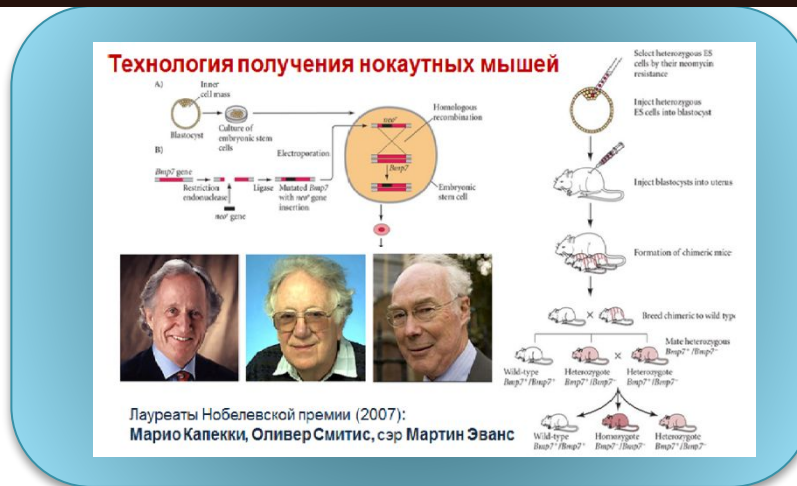
- Острое (один раз).
- Повторное (до 5 раз).
- Хроническое (более 7 дней).
- Через рот в питьевой воде, в корме или через зонд.
- Внутривентрикулярное.
- Системное – внутривенное.
- Внутримозговое.
- Доза в мкг для внутримозгового и в мг/кг веса для остальных способов введения.

# Измерение концентрации медиатора

- In situ на срезах мозга с помощью химических соединений или моноклональных антител. Используется для картирования нейронов в мозге.
- In vitro медиатор экстрагируют из ткани мозга и его концентрацию определяют в растворе:
- флуориметрически после специфической обработки,
- радиоферментным методом после введения радиоактивной метки в молекулу медиатора с помощью специфических ферментов и
- с помощью жидкостной хроматографии высокого давления.
- Секреция медиатора методом микродиализа.

# Reversed genetics

Запрос на сайте NCBI  
словосочетания  
“Animal Model”  
 $\Sigma = 600275$



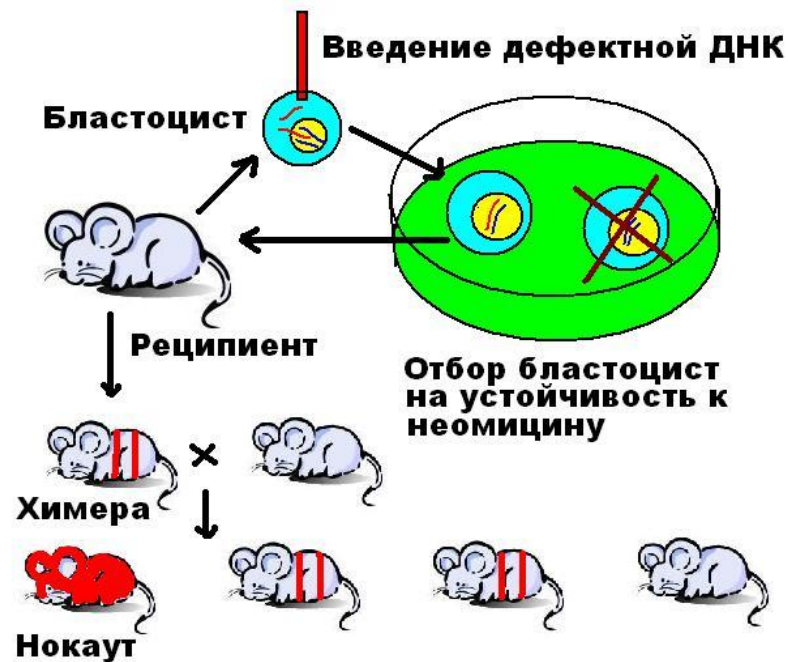
Первая  
трансгенная  
мышь (1982)

Первая нокаутная  
мышь (1989)





# Получение нокаутных мышей



- Инактивирует ген.
- Получение нокаута:
- Введение в бластоцисты ДНК гена, инактивированного вставкой устойчивости к неомицину.
- В результате рекомбинации у части бластоцистов нормальный ген заменяется на дефектный.
- Селекция устойчивых к неомицину бластоцистов.
- Введение измененных клеток в бластулу реципиента.
- Отбор химерных животных и их гомозиготизация.

# Генетический нокаут: за и против

- Позволяет исследовать значение отдельного гена.
- Влияние нокаута на поведение в общем совпадает с эффектами антагонистов.
- Позволяет выявить молекулярные механизмы действия препаратов.
- В ряде случаев приводит к открытию новых генов (tph2).
- Активация компенсаторных механизмов.
- Трудно создать адекватный контроль.

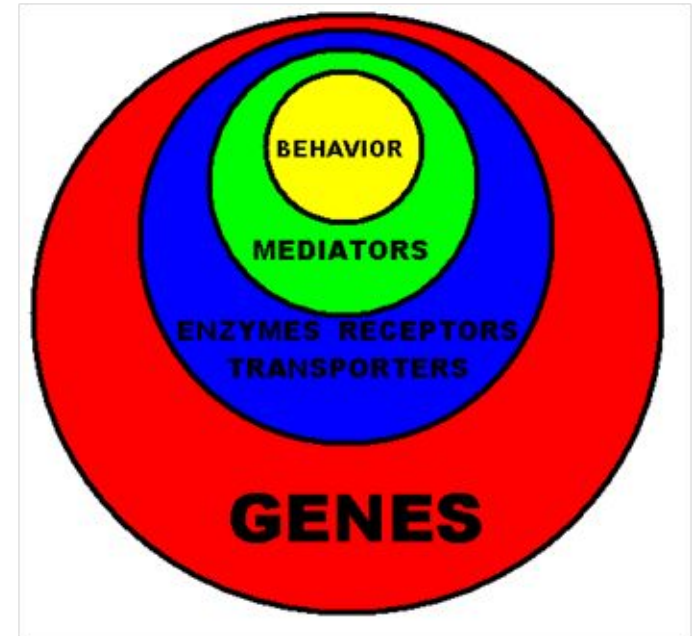
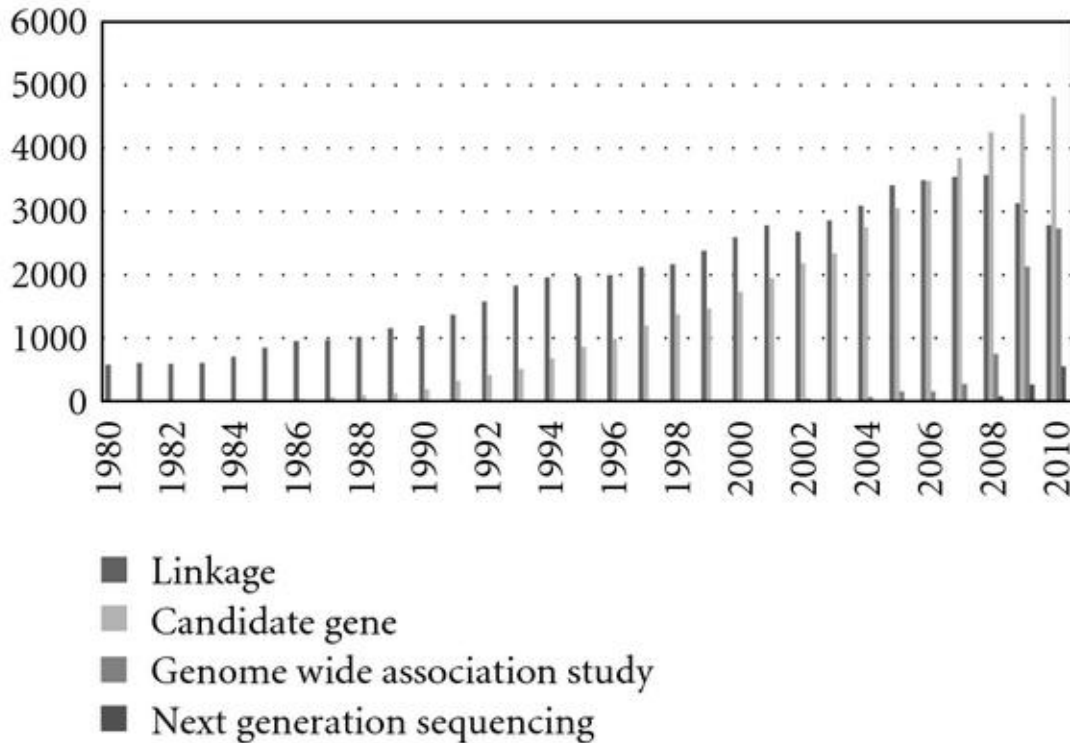
## Основное противоречие полигенной концепции

- Один полиген добавляет мало информации о молекулярной структуре поведения.
- Одновременный анализ всех возможных полигенов, ассоциированных с исследуемым признаком, превосходит возможности науки..
- Полигенная концепция формальна: она отвечает на вопрос «Какие локусы контролируют поведение?», но не на вопрос «Какие молекулярные механизмы ассоциированы с данными локусами?»

## Гипотеза главного гена корректирует недостатки полигенной гипотезы

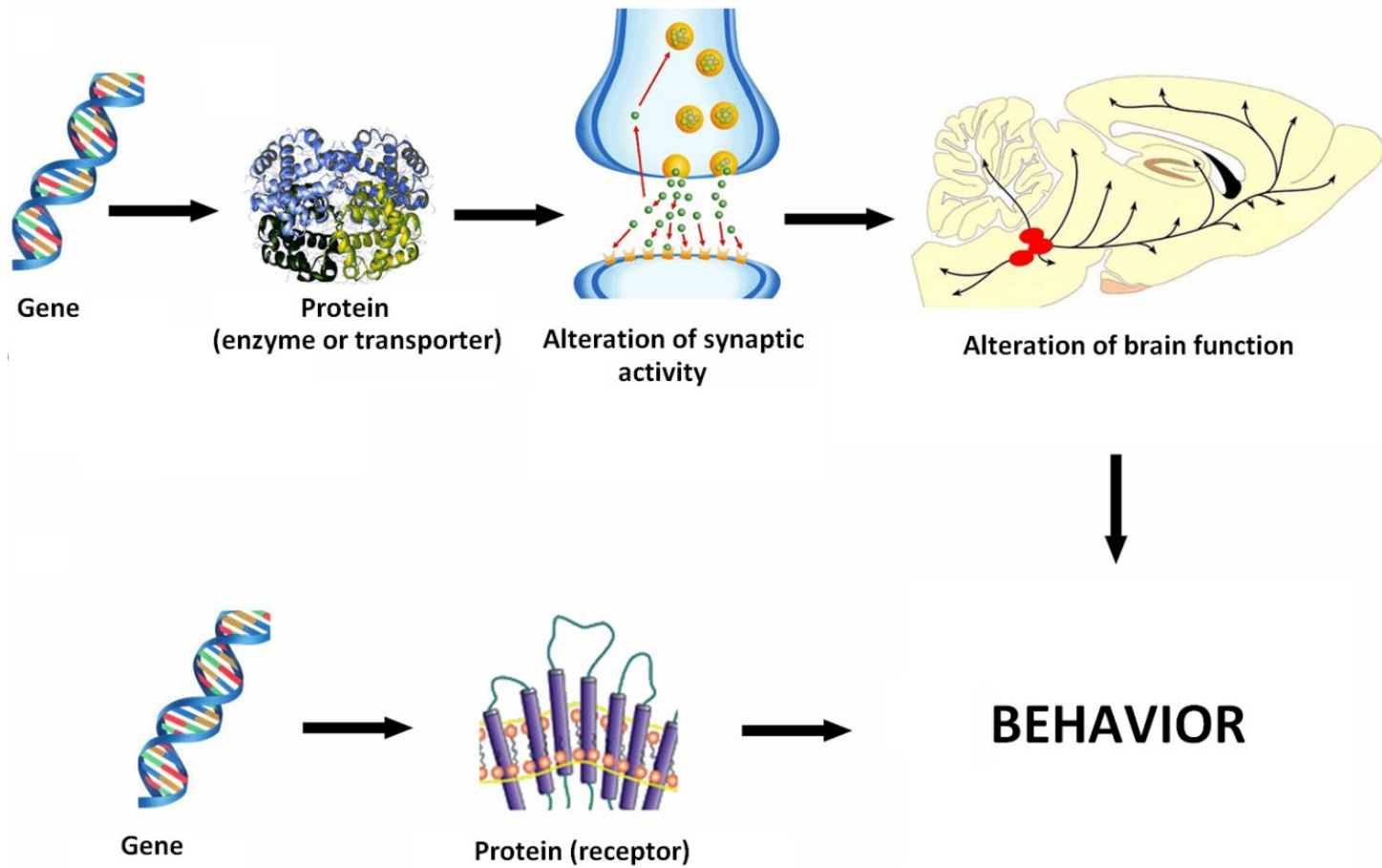
- Гипотеза главного гена возникла как компромисс на главное противоречие полигенной гипотезы.
- Она постулирует один ген с более сильным эффектом на поведение. Главный ген может определять более 10% наследственной изменчивости поведения, тогда как вклад каждого полигена не превышает 1%.
- Подтверждением данной гипотезы служит заметное влияние на поведение нокаута по генам, вовлеченным в сигнальные процессы в мозге.

# Концепция генов-кандидатов



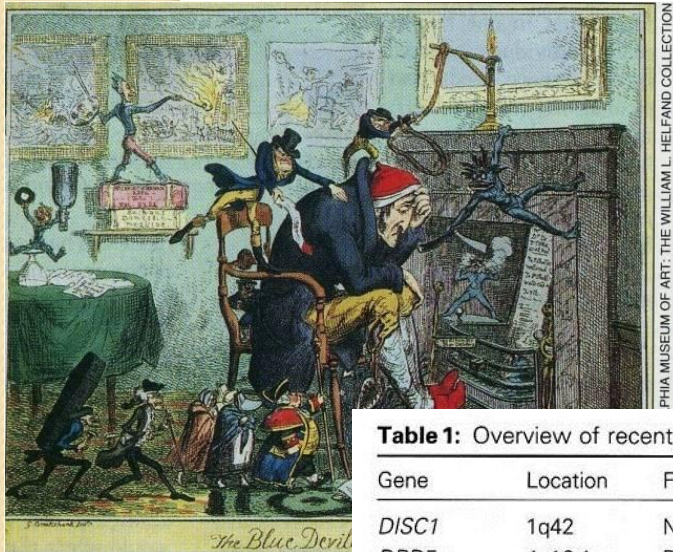
Согласуется с концепцией главных генов и является ее реализацией; постулирует, что наследственные изменения поведения обусловлены функциональными мутациями одного или нескольких генов, регулирующих функции мозга; является экспансией физиологического мышления в генетику поведения; Гены кандидаты должны: экспрессироваться в мозге, участвовать в сигнальных процессах в ЦНС, быть сцепленными с локусами, ассоциированными с изменениями поведения.

# Возможные пути от гена к поведению



# Гены кандидаты, ассоциированные с биполярными психозами

БП часто связывают с дисфункцией 5-HT системы мозга



**Table 1:** Overview of recent evidence for candidate genes for bipolar disorder (BPD)

Gene	Location	Functional significance	Supportive evidence
<i>DISC1</i>	1q42	Neuronal structural protein	Millar <i>et al.</i> (2004)
<i>DRD5</i>	4p16.1	DA system regulates emotion and motivation	Holmes <i>et al.</i> (2001)*
<i>DAT</i>	5p	Mediates reuptake of DA	Greenwood <i>et al.</i> (2001)
<i>HTR4</i>	5q	Encodes the 5-HT <sub>4</sub> receptor, which influences DA secretion	Ohtsuki <i>et al.</i> (2002)
<i>GRIN1</i>	9q	Codes for a critical NMDA receptor subunit; lithium may act via NMDAR	Mundo <i>et al.</i> (2003)
<i>DRD4</i>	11p	DA system regulates emotion and motivation	Muglia <i>et al.</i> (2002)
<i>BDNF</i>	11p	Neuronal growth factor involved in stress and antidepressant response	Sklar <i>et al.</i> (2002), Neves-Pereira <i>et al.</i> (2002), Kernie <i>et al.</i> (2000)*, Dluzen <i>et al.</i> (2001)*, Lyons <i>et al.</i> (1999)*
<i>DRD2</i>	11q	DA system regulates emotion and motivation	Massat <i>et al.</i> (2002a)
<i>NCAM1</i>	11q	Involved in neuronal growth and pathway formation	Arai <i>et al.</i> (2004)
<i>P2RX7</i>	12q	Calcium-stimulated ATPase; influences neurotransmitter release and neurogenesis	Barden <i>et al.</i> (2004)
<i>G72/G30</i>	13q	G72 interacts with D-amino acid oxidase; G30 unknown	Hattori <i>et al.</i> (2003), Chen <i>et al.</i> (2004), Schumacher <i>et al.</i> (2004)
<i>HTR2A</i>	13q	May mediate effects of serotonin reuptake inhibitors	Ranade <i>et al.</i> (2003)
<i>GRIN2A</i>	16p	Glutamate receptor subunit	Itokawa <i>et al.</i> (2003)
<i>ADCY9</i>	16p	Second messenger in neuronal signaling; may be antidepressant target	Toyota <i>et al.</i> (2002b)
<i>5-HTT</i>	17q	Promoter alleles affect transcriptional efficiency of 5-HTT	Collier <i>et al.</i> (1996), Rotondo <i>et al.</i> (2002)
<i>CHMP1.5</i>	18p	Affects G-protein signaling	Berrettini (2003)
<i>COMT</i>	22q	COMT alleles affect enzymatic activity	Lachman <i>et al.</i> (1996), Rotondo <i>et al.</i> (2002)
<i>GRK3</i>	22q	Regulates homeostatic brain response to DA	Barrett <i>et al.</i> (2003), Niculescu <i>et al.</i> (2000)*
<i>GABRA3</i>	Xq	BPD may stem in part from GABA deficit	Massat <i>et al.</i> (2002b)
<i>MAOA</i>	Xp	Degrades DA, serotonin, norepinephrine	Preisig <i>et al.</i> (2000)

# Гены кандидаты в психиатрической генетики

- Главный подход в психиатрической генетике включает изучение ассоциаций между мутациями генов-кандидатов и поведением. Эти мутации обычно используются как маркеры генов-кандидатов.
- Включает сравнение распределения мутантных аллелей генов-кандидатов в контрастных по выраженности поведения группах.
- Основными статистиками являются  $\chi^2$  и ANOVA.
- Статистически значимое различие в частотах генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов-кандидатов между группами свидетельствует об ассоциации между мутацией и выраженностью наследственного поведения.



## Прогресс, который приносит концепция генов-кандидатов в психиатрию

- Распространение идей и методов молекулярной биологии в психиатрию, нейробиологию и этологию.
- Демонстрация ассоциации между генами и поведением.
- В молекулярной психиатрии концепция генов-кандидатов часто является единственным способом изучения молекулярных механизмов нормального и патологического поведения.

## Первая проблема: выбор гена-кандидата из тысяч потенциальных генов

Медиатор	Число генов
серотонин	18
дофамин	10
норадреналин	14
ацетилхолин	24
ГАМК	23

- Около 10 000 генов экспрессируются в мозге и участвуют в сигнальных процессах. Каждый из этих генов можно рассматривать как возможный кандидат, но невозможно протестировать все возможные гены-кандидаты.
- Возможно только проверить гипотезу об участии одного выбранного гена в регуляции исследуемого поведения.

## Вторая проблема: выбор одного полиморфизма из большого числа возможных

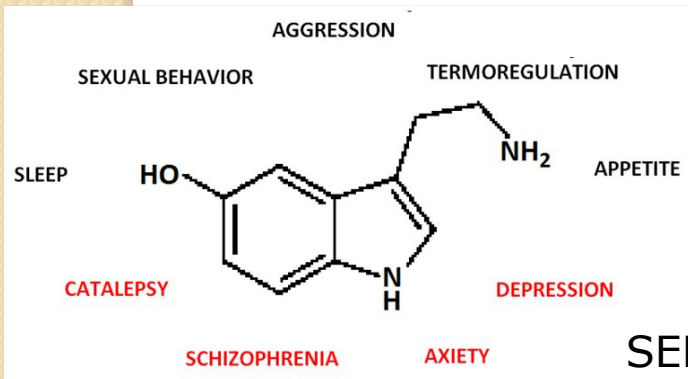
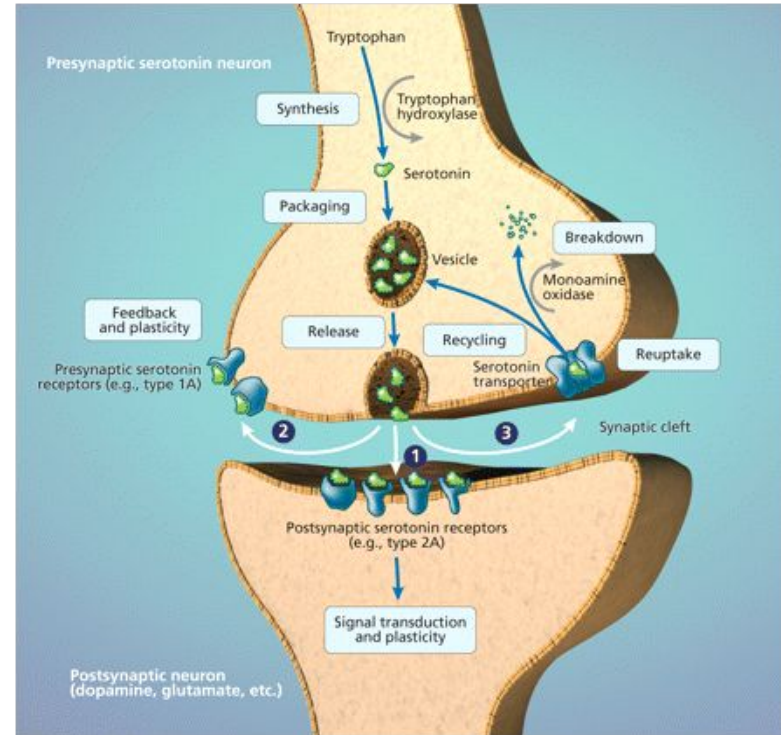
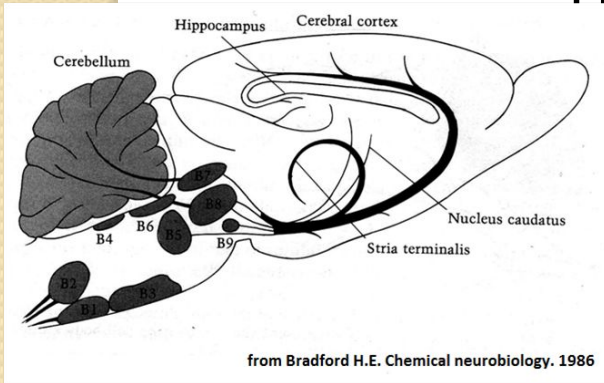
Авторы	Nielsen et al., 1994	Abbar et al., 1995
Выборка	Европейцы, США	Европейцы, Европа
Пациенты	36	62
Контроль	34	52
Полиморфизм	Intron 7	Ava II, RFLP
Ассоциация	Да	Нет

- Результат работы часто зависит от выбора полиморфизма.
- Например, ассоциация риска суицида с геном ТПГ1 зависит от типа этого полиморфизма.
- Риск ложных позитивов можно уменьшить если используются функциональные мутации.

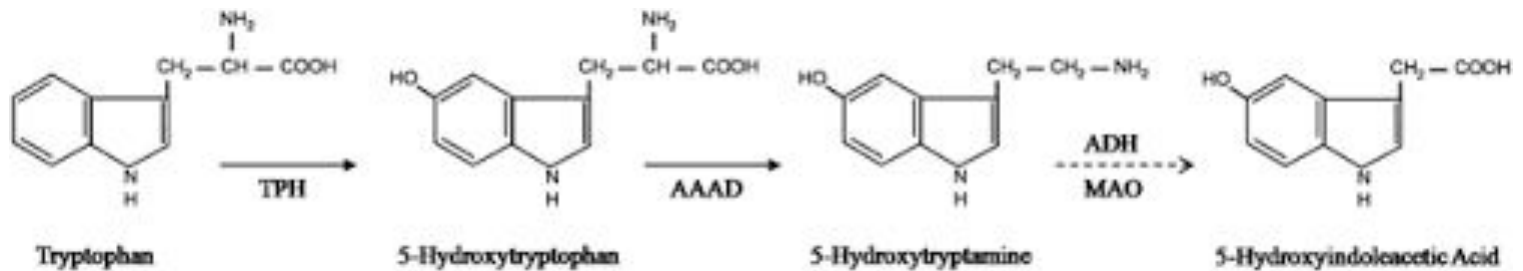
# Протокол исследования генов-кандидатов

- Идеальный протокол включает:
- 1. Выбор системы, вовлеченной в регуляцию исследуемого поведения.
- 2. Выбор гена, играющего ключевую роль в регуляции выбранной медиаторной системы.
- 3. Выбор **функциональной мутации**, которая изменяет экспрессию или функциональную активность кодируемого геном-кандидатом белка.
- 4. Оценка ассоциации между данной мутацией с поведением.
- 5. **Подтверждение полученной ассоциации независимыми генетическими, нейробиологическими и фармакологическими методами.**

# 5-HT система Мозге



SERT and MAOA are targets for antidepressant drugs



# Функциональные полиморфизмы в генах, регулирующих 5-HT систему человека

Gene	Polymorphism	Affected genotype
<i>TPH2</i>	G1463A (SNP)	A/A (20% of activity)
<i>HTR1A</i>	-1019C>G (SNP)	C/C
<i>SLC6A4</i>	5HTTLPR (VNTR)	14/14 (50% of activity)
	STin2 (VNTR)	10/10
<i>MAOA</i>	1.2 kb upstream (VNTR)	3/3 (2-10 times)

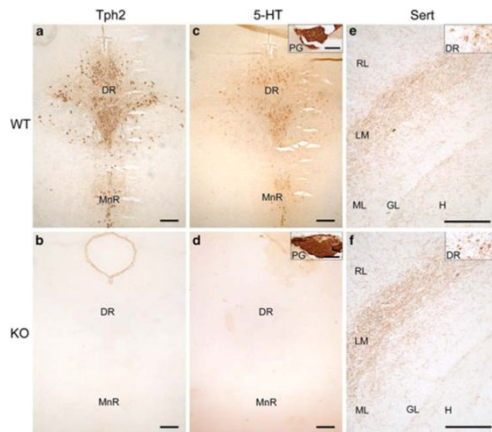
## Ассоциация между геном *hTRH2* и психопатологиями

GROUP	NUMBER (%)		
	TOTAL	A/A	G/A
PATIENTS	87	3 (3.44)	6 (6.88)
CONTROL	219	1 (0.46)	2 (0.92)

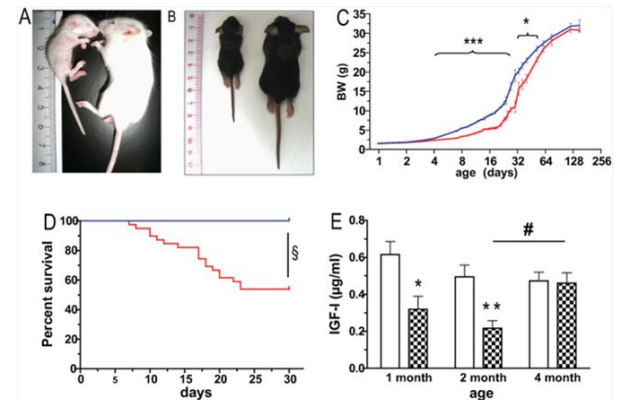
- Мета анализ с использование большого числа маркеров демонстрирует ассоциацию гена ТПГ2 с риском психопатологий и суицида (Porova, Kulikov, 2010). 5 редких функциональных мутаций были найдены у психических больных.
- Полиморфизм G1463A вызывает замену Arg441His и снижает активность ТПГ2 *in vitro*. Показана ассоциация редкого А аллеля с риском униполярного психоза: частота А аллеля увеличена до 13.8% у депрессивных пациентов по сравнению с 1.8% у контроля (Zhang et al., 2005).

# Мышиные модели функциональных мутаций в генах системы человека

Gene	Polymorphism	References
<i>Tph2</i>	KO	Gutknecht et al., 2008; Savelieva et al., 2008; Alenina et al., 2009,
	R439H	Beaulieu et al., 2008
	C1473G (P447R)	Siesser et al., 2010; Bazovkina et al., 2015
<i>Slc6a4</i>	KO	Bengel et al., 1998
<i>Maoa</i>	KO	Cases et al., 1995
<i>Htr1a</i>	KO	Parks et al., 1998; Heisler et al., 1998; Ramboz et al., 1998



from Gutknecht et al., J Neural Transm 2008, 115:1127-1132.



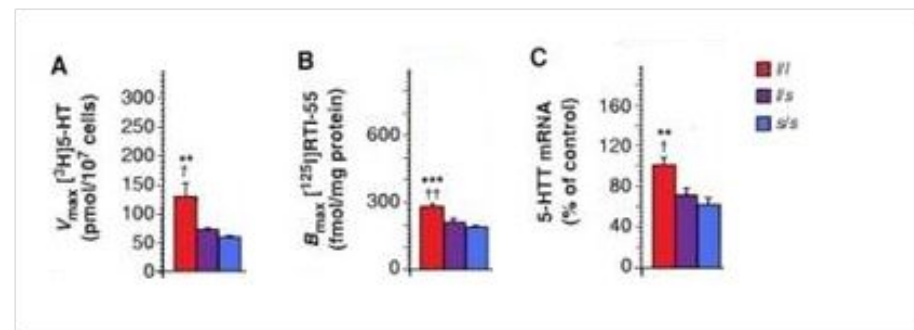
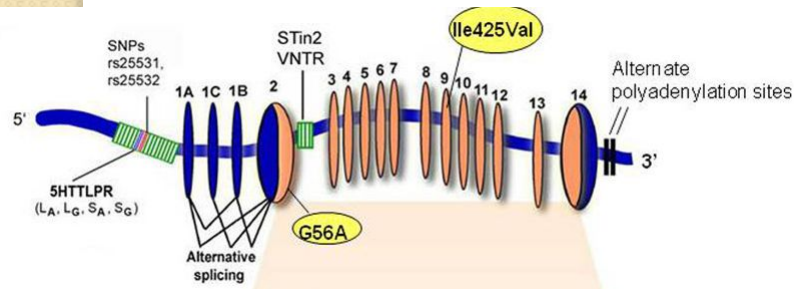
from Alenina et al., PNAS 106:10333-10337.



# Эффекты снижения активности TRH2 на поведение мышей

<i>Tph2KO</i>	R439H	P447R
Aggression		
↑[1,4,5] ↑↓[2]	↑ [3]	↓ [6]
Anxiety-related behavior		
↓[2,5]	↑ [3]	→[6]
Depressive-like behavior(forced swim test)		
↓ [7] ↑ [5]		↓ [6]
Depressive-like behavior (tail suspension test)		
→ [5]	↑ [3]	

<sup>1</sup>Alenina et al., 2009; <sup>2</sup>Angoa-Perez et al., 2012; <sup>3</sup>Beaulieu et al., 2008;  
<sup>4</sup>Lesch et al., 2012; <sup>5</sup>Mosienko et al., 2012; <sup>6</sup>Osipova et al., 2009;  
<sup>7</sup>Savelieva et al., 2008



## FEATURE ARTICLE

# A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: I. Affective disorders

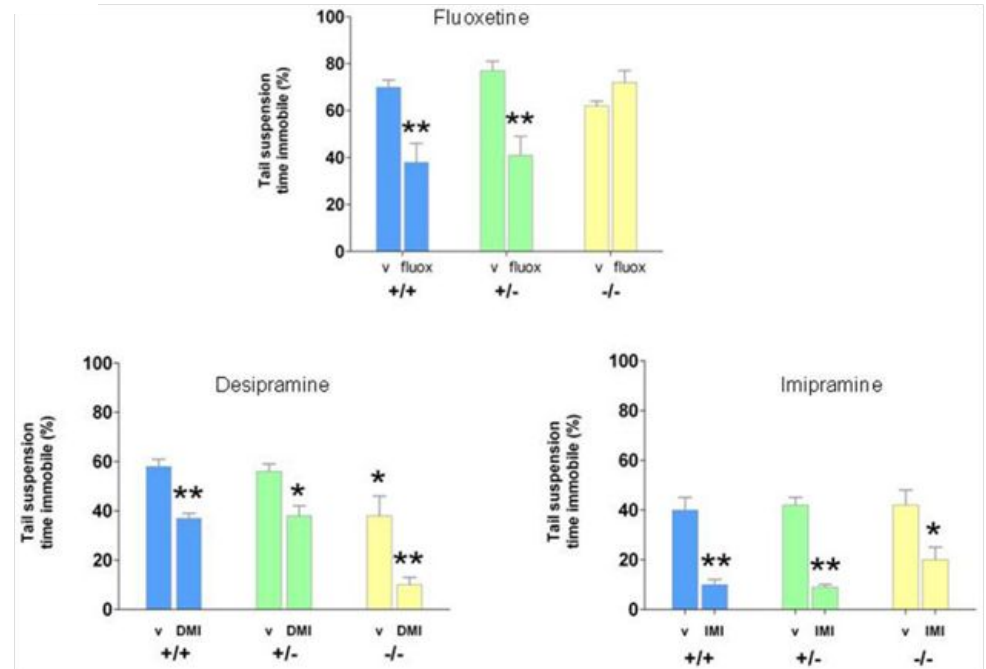
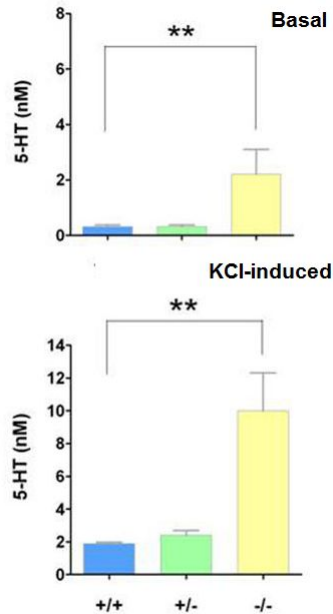
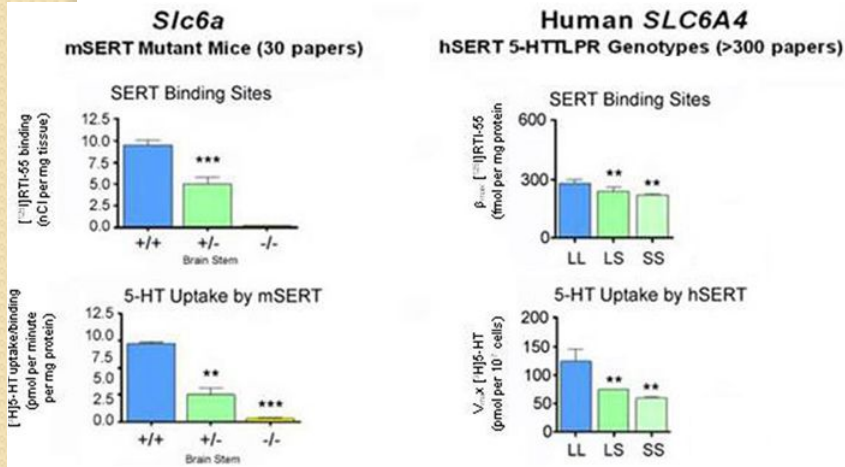
M Anguelova<sup>1</sup>, C Benkelfat<sup>2</sup> and G Turecki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Douglas Hospital Research Center, McGill University, Montreal, Canada; <sup>2</sup>MUHC, McGill University, Montreal, Canada

The different 5-HT (serotonin) receptors including the serotonin transporter (5-HTT) are candidate genes for affective disorders such as major depressive disorder (MDD) and bipolar disorder (BD). They have been investigated in a number of allelic association studies where the individual results have been inconsistent, and therefore, definite conclusions are difficult to make. Systematic reviews using meta-analytical techniques are a reliable method for objectively and reproducibly assessing individual studies and generating combined result. This study aimed at reviewing published studies investigating the association between affective disorders (MDD and BD) and variation at genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter. We performed National Library of Medicine database searches to identify potential studies. More than 430 articles were reviewed and 86 studies met the inclusion criteria for participation in our review. Of these, 41 studies investigated 45 different 5-HT receptor variants and 45 studies investigated at least one of two commonly studied 5-HTT polymorphisms in MDD. Many studies investigated the association between MDD and BD with the 5-HT<sub>2A</sub> 102 T/C, the 5-HTT promoter 44 bp insertion/deletion and the intron 2 VNTR polymorphisms, and thus, these could be pooled using meta-analytical techniques. The overall odds ratio (OR) for the combined individual results was significant for BD and the two 5-HTT polymorphisms: Mantel–Haenszel weighted OR  $\frac{1}{4}$  1.14, CI: 1.03–1.26,  $P \frac{1}{4}$  0.015 for the promoter locus ( $N \frac{1}{4}$  3467) and Mantel–Haenszel Weighted odds ratio OR  $\frac{1}{4}$  1.18, CI: 1.05–1.32,  $P \frac{1}{4}$  0.004 for the VNTR locus ( $N \frac{1}{4}$  3620). However, sensitivity analysis indicated that, in each case, the overall positive association could be mostly attributed to the large effect of one individual study. Therefore, these results suggest that, although promising, further studies are required to assess appropriately the evidence suggesting an association between BD and 5-HTT. Molecular Psychiatry (2003) 8, 574–591. doi:10.1038/sj.mp.4001328

Keywords: bipolar disorder; major depressive disorder; genetic association studies; genetic polymorphisms; serotonin receptors; serotonin transporter

# Действие антидепрессантов на неподвижность мышей *Slc6a4*<sup>+/+</sup>, *Slc6a4*<sup>+/-</sup> and *Slc6a4*<sup>-/-</sup> в TST



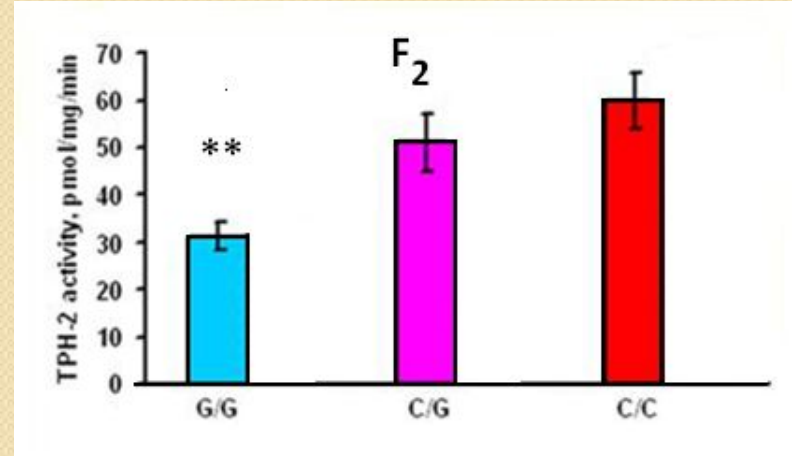
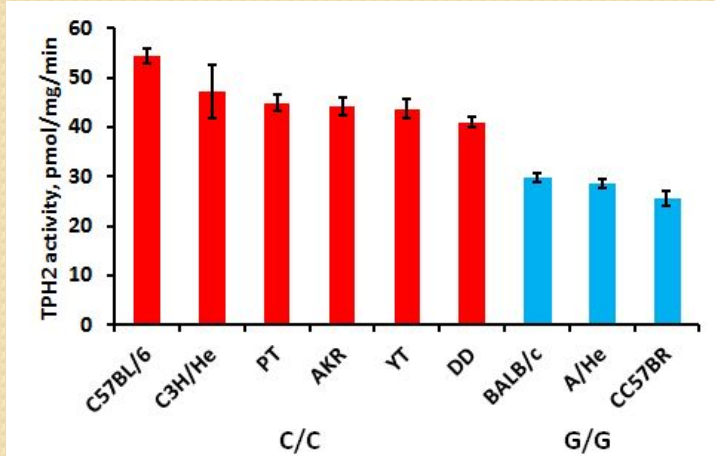
# Спонтанная межсамцовая агрессия



# Гены-кандидаты межсамцовой агрессии (Maxson, 1999)

- Аденозин 2a рецептор
- Андроген рецептор
- Кальций/кальмодулин киназа
- Андроген рецептор
- Кальций/кальмодулин киназа II
- Энкефалин
- Рецептор эстрогена
- Гистаминовый 1 рецептор
- 5-НТ1В рецептор
- MAO A
- NSAM
- Нейролекин-1 рецептор
- NO синтетаза
- Окситоцин
- Стероид сульфотаза
- Область хромосомы Y
- Тахикинин 1 рецептор
- Ген отсутствия хвоста
- T фактор роста  $\alpha$

# Выбор полиморфизма С1473G



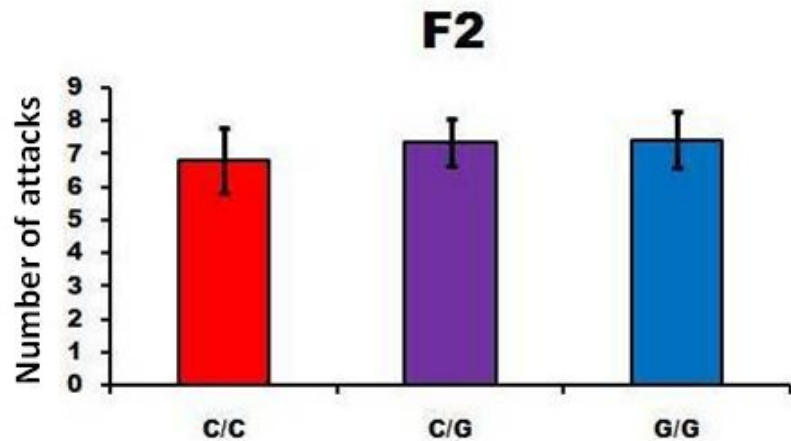
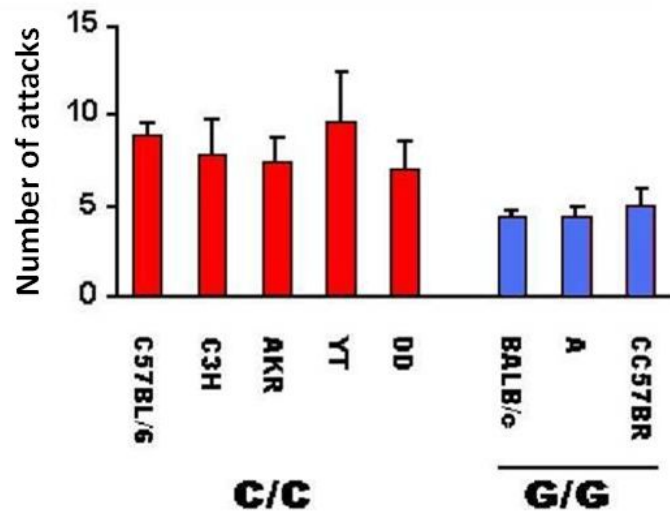
- Полиморфизм С1473G приводит к замене Pro447Arg в молекуле ТПГ2 (Zhang et al., 2004) . Это основной фактор наследственной изменчивости ТПГ2 в мозге лабораторных мышей.
- Аллель 1473G allele ассоциирован с низкой активностью ТПГ2 в мозге мышей (Kulikov et al., 2005; 2007). Однако полиморфизм не влияет на уровень и метаболизм серотонина в мозге (Siesser et al., 2010; Bazhenova et al., 2017).
- В то же время, аллель 1473G перенесенный в геном C57BL/6 не влиял на двигательную активность, тревожность (Tenner et al., 2008; Osipova et al., 2009) и депрессивное поведение в тестах принудительного плавания (Tenner et al., 2008) и tail suspension (Siesser et al., 2010).
- В то же время, аллель 1473G значительно снижает выраженность межсамцовой агрессии у мышей (Kulikov et al., 2005, 2012; Osipova et al., 2009).

# Распределение полиморфизмов C1473G и C1477T в популяциях диких мышей

Region	N	C1473G			C1477T				
		CC	CG	GG	CC	CT	TT	C(%)	T(%)
Новосибирск	33	33	0	0	14	18	1	70	30
Калмыкия	19	19	0	0	0	11	8	29	71
Армения	11	11	0	0	11	0	0	100	0
Москва	10	10	0	0	1	5	4	35	65
ЯНАО	2	2	0	0	1	1	0	75	25
Всего	75	75	0	0	27	35	13	59	41

(Osipova et al., Genes Brain Behav, 2010).

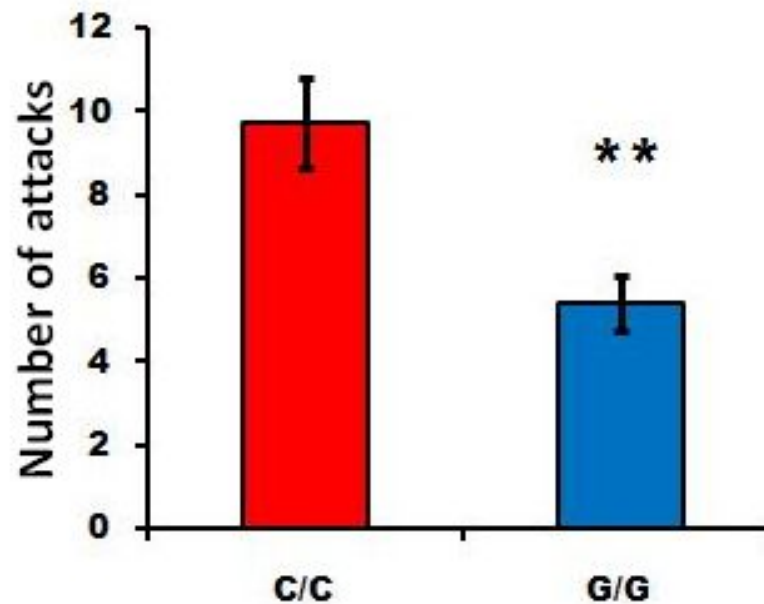
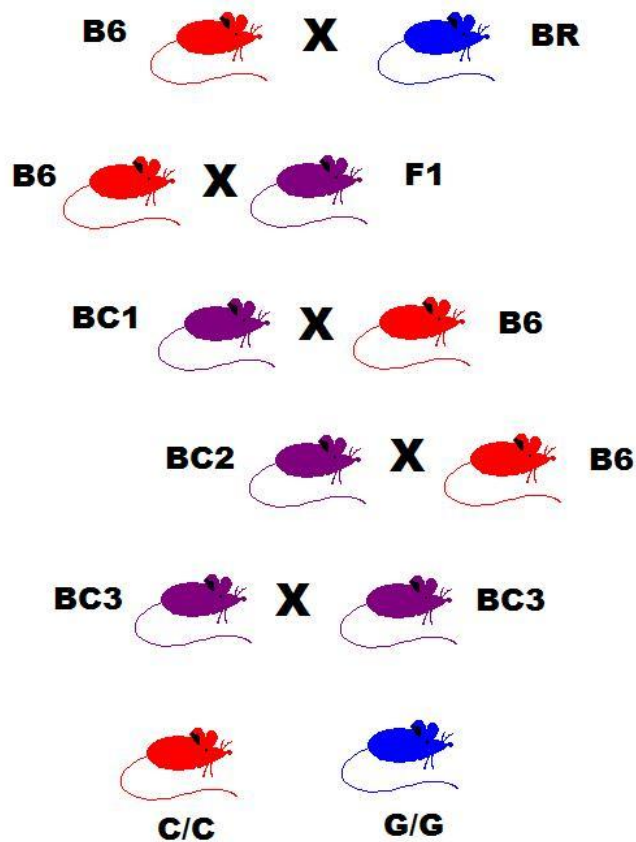
## Ассоциация полиморфизма C1473G с интенсивностью межсамцовой агрессии мышей



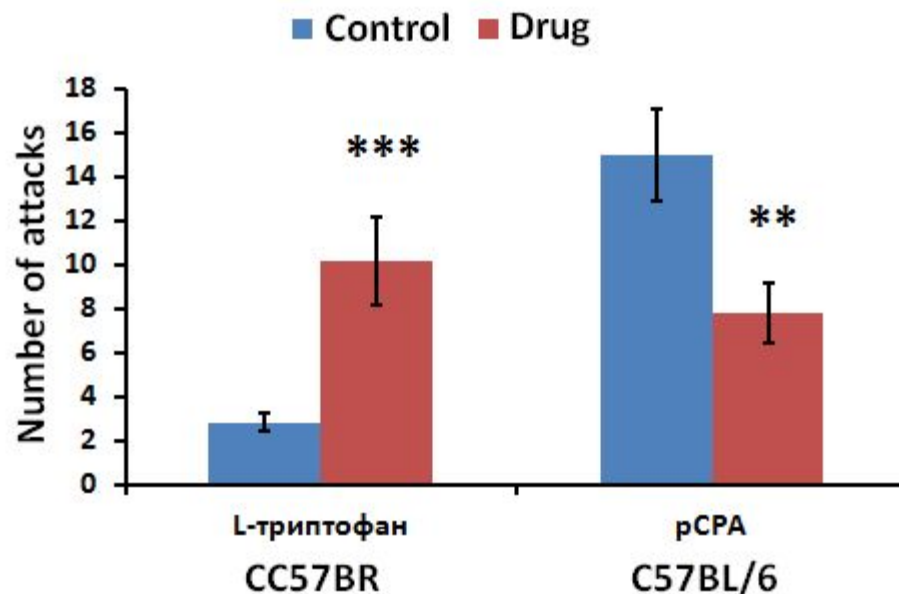
- Самцы 5 линий гомозиготных по C аллелю атаковали интродера вдвое более интенсивно чем самцы 3 линий гомозиготных по G аллелю (Kulikov et al., 2005).
- Сцепление между G аллелем и интенсивностью агрессии у интеркроссов F<sub>2</sub> между C57BL/6 (высокая агрессия) и CC57BR (низкая агрессия) маскируется сегрегацией по другим нейрогенам.



# Доказательство сцепления полиморфизма с1473g с интенсивностью межсамцовой агрессии



# Фармакологическое доказательство участия ТПГ2 в регуляции агрессии у мышей



- Активация синтеза 5-НТ L-триптофаном значительно усиливает интенсивность драк у мышей слабо агрессивной линии CC57BR.
- Ингибитор ТПГ2, pCPA значительно снижает интенсивность агрессии у мышей высоко агрессивной линии C57BL/6 (Kulikov et al, Behav Brain Res 2012).

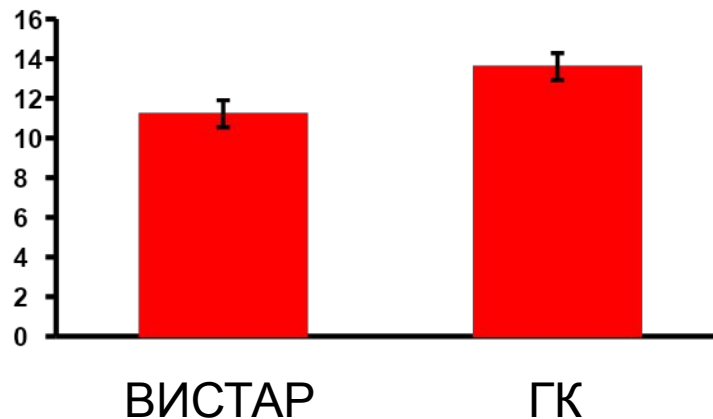
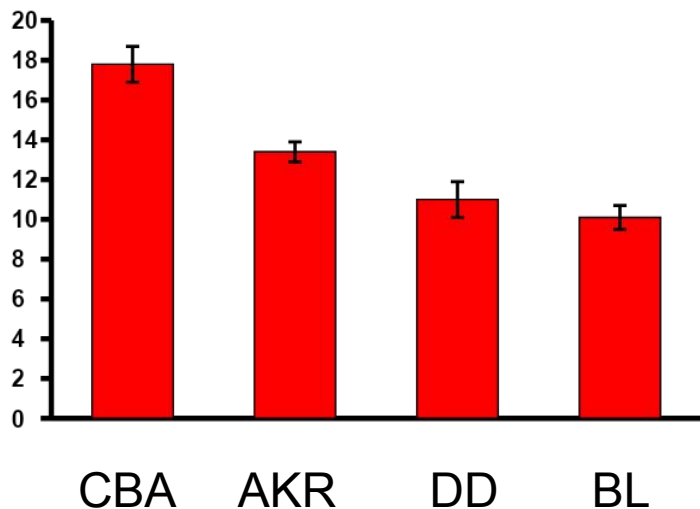
# Наследственная каталепсия у крыс ГК



- В популяции крыс Вистар около 10% животных сохраняют приданную им вертикальную позу более 20 с.
- Этот признак был усилен длительной селекцией и получена линия крыс ГК (генетическая каталепсия), в которой каталепсия наблюдается более чем у 50% особей (Барыкина и др., 1983).

# Наследственная каталепсия у мышей и крыс сопровождается локальным увеличением активности ТПГ-2 в стриатуме

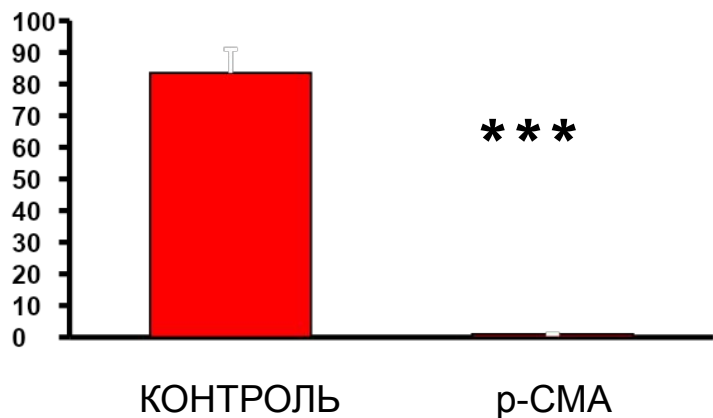
МЫШИ  
КРЫСЫ



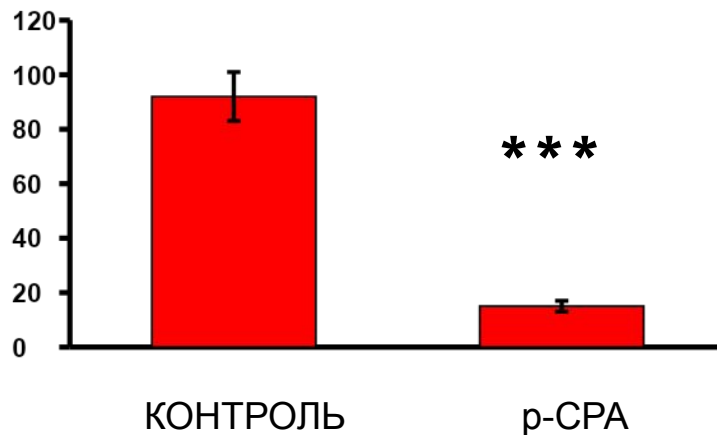
\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs каталептиков.

# Ингибиторы ТПГ-2 уменьшают время замирания мышей и крыс

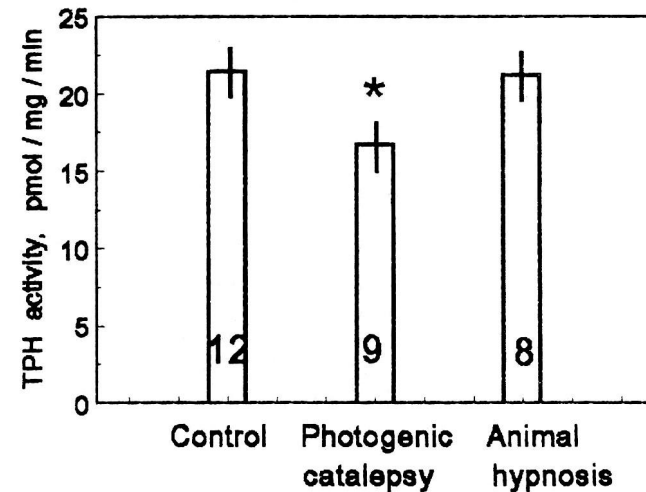
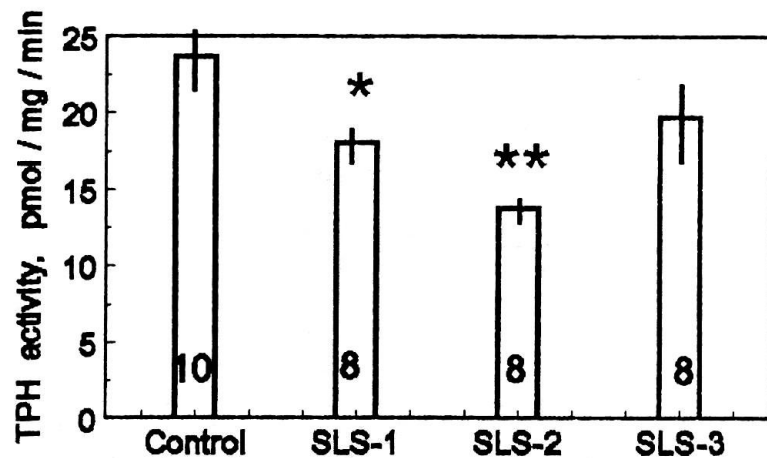
## МЫШИ СВА



## КРЫСЫ ГК



# Каталептоподобные состояния у лягушки



- Связь каталепсии с серотонином носит сигнальный характер.
- Каталептоподобные состояния SLS-1, SLS-2 и фотогенная каталепсия у лягушек, напротив, сопровождаются снижением активности ТПГ-2