

Tartu Ülikool
Psühholoogia instituut

Susanna Soomets

**NEUROTROFIINI GDNF MÕJU DOPAMIINI TASEMETELE ERINEVA
UUDISTAMISAKTIIVSUSEGA ROTTIDEL**

Uurimistöö

Juhendajad: prof. Jaanus Harro, MD, PhD

Karita Laugus, PhD

Läbiv pealkiri: neurotrofiinid, dopamiin ja uudistamisaktiivsus

Tartu 2019

Neurotrofiini GDNF mõju dopamiini tasemele erineva uudistamisaktiivsusega rottidel

Kokkuvõte

Dopamiini funktsiooni on seostatud motivatsiooni ja meeleoluhäiretega. Käesolev töö uurib GDNF geeni ekspressiooni tõstmise mõju dopamiini tasemele erineva uudistamisaktiivsusega rottide näitel. Rottide (n=37) ajukoes sisalduvat dopamiinitaset mõõdeti kõrgrõhvedelikkromatograafia abil. Selgus, et väheuudistavatel rottidel tõusis olulisel määral dopamiini metaboliidi DOPAC tasemed nii juttkehas kui ka naalduvas tuumas GDNF geeni manipulatsiooni tulemusena, samas ei muutnud GDNF geeni manipulatsioon oluliselt dopamiini tasemed. Samuti leiti oluline erinevus dopamiini käives. Seega võib järeldada, et väheuudistavatel rottidel mõjutab GDNF dopamiini metabolismi.

Märksõnad: neurotrofiinid, dopamiin ja uudistamisaktiivsus

Effects of neurotrophine GDNF to dopamine levels in rats with different exploratory behaviour

Summary

The function of dopamine has been associated with motivation and mood disorders. This paper explores the effect of modifying the expression of GDNF gene on the levels of dopamine in rats with different exploratory activity. The dopamine levels of the animals (n=37) were analysed using high performance liquid chromatography. As a result, the level of dopamine metabolite DOPAC levels of the LE-rats who exhibit less exploratory activity had enhanced due to the manipulation of GDNF gene, although it did not affect the levels of dopamine. A significant difference was also found in dopamine turnover. Therefore we may conclude that GDNF affects the metabolism of dopamine of the rats who exhibit less exploratory activity.

Keywords: neurotrophines, dopamine and exploratory activity

1. Sissejuhatus

1.1. Uudistav käitumine

Käitumist on võimalik lahti mõtestada individuaalsete erinevuste kaudu. Selline lähenemine võimaldab uurida käitumise põhjuseid, lähtudes indiviidist ja tema neuroloogilistest iseärasustest (Pawlak, Ho, & Schwarting, 2008). Enim uuritud individuaalsete erinevuste dimensiooniks peetakse seda, mis peegeldab looma reaktsiooni uudsele stiimulile või situatsioonile – antud käitumist on nimetatud reaktiivsuseks, emotsionaalsuseks või kartlikkuseks – ning teiseks enim uuritud dimensiooniks peetakse uudistavust (Gosling, 2001).

Käitumine uudes keskkonnas on uudishimu ja hirmu funktsioon, mis tähendab, et käitumist mõjutab ühelt poolt motivatsioon avastada uut keskkonda ning teiselt poolt hirm potentsiaalselt ohtlike stiimulite ees (Harro, 1993). Rottide uudistavat käitumist, s.o. käitumine, mis võimaldab uudsete stiimulite tuvastamist, on rakendatud selleks, et uurida loomudelitel erinevaid psühhopatoloogilisi sümptomeid ning erinevusi monoamiinergilistes süsteemides (Landgraf & Wigger, 2002; Pawlak et al., 2008).

Uudistamiskasti testi (exploration box test) paradigmat (Harro, Orelan, Vasar, & Bradwejn, 1995) kasutades võib uudistava käitumise põhjal rotte jagada kahte gruppi, kõrge ja madala uudistamisaktiivsusega rotid, vastavalt HE- ja LE-rotid. Test viiakse läbi 50 x 100 x 40 cm uudistamiskastis, mis koosneb nii avarast väljast nelja objektiga (klaaspudel, pappkarp, puidust pulk ja toidupala) kui ka väiksemast varjatud alast (Harro et al., 1995). HE-rotid interakteeruvad uudse keskkonnaga rohkem, veetes rohkem aega avatud alas ning uudistades objekte, kui LE-rotid, kes veedavad rohkem aega varjatud kinnises osas. Roti kuuluvus kas LE- või HE-rottide gruppi ennustab tema sooritust ka teistes käitumuslikes eksperimentides, nt tõstetud plusspuuri testis, sundujumise testis ja hirmu tingimise testis, milles kõikides on ilmnenu, et LE-rottide käitumine on rohkem pärsitud kui HE-rottidel (Mällo et al., 2007).

Analoogseks käitumisparadigmaks võib pidada autorite (Piazza, Deminière, Le Moal, & Simon, 1989) paradigmat, mis kasutab sunnitud uudisringkoridori selleks, et jaotada rotid kas kõrge (HR) või madala (LR) uudisest-tingitud liikumisaktiivsusega rottideks. Seda individuaalsete erinevuste mudelit on kasutatud, uurimaks käitumist, mis seostub ärevusega, sõltuvusega ning stressiga (Blanchard, Mendelsohn, & Stamp, 2009; Kabbaj, Devine, Savage, & Akil, 2000; Stead et al., 2006), kusjuures LR-rotid, sarnaselt LE-rottidega, käituvad

ärevamalt ning omavad kõrgemaid neurobioloogilisi korrelatsioone erinevate stressi indikaatoritega.

Pidevalt laienev kirjandus erinevatest käitumuslikest paradigmatelt vihjab asjaolule, et uudistavas käitumises esinevad individuaalsed erinevused on seotud biokeemiliste protsessidega. Näiteks on leitud, et LE- ja HE-rottidel on erinevalt ekspresseerinud erinevate virgatsainetega seotud geenid (Alttoa, Kõiv, Hinsley, Brass, & Harro, 2010) ning HE-rottidel on võrreldes LE-rottidega kõrgemad basaalsed ja stimuleeritud ekstratsellulaarsed dopamiini tasemed juttkehas, kuid mitte naalduvas tuumas (Alttoa, Seeman, Kõiv, Eller, & Harro, 2009; Mällo et al., 2007).

1.2. Dopamiin

Juba üle 50 aasta on teada, et teatud monoamiinide tasemete tõstmine leevendab depressiooniga kaasnevaid sümptomeid (Coppen, 1967). Sellel teadmisel on põhinenud enamik depressiooniravimeid, mis üldjuhul mõjutavad kas dopamiini, serotoniini või noradrenaliini juhteteid.

Dopamiin (DA) ehk 3,4-dihüdrosüfenetüülamiin on katehoolamiin, mis imetajate kesknärvisüsteemis toimib üldjuhul kui erutav virgatsaine. DA-i leidub ajus kõige enam dopamiinergilistes süsteemides.

Dopamiinergiliste süsteemide all peetakse üldjuhul silmas dopamiinergilisi juhteteid, mis koosnevad dopamiinineuronitest (Kapur & John Mann, 1992). Kolmeks peamiseks juhteteeks on mesolimbiline, mesokortikaalne ja nigrostriaalne juhtetee. Mesolimbilist juhteteed seostatakse enim tasu otsimisega ning see koosneb dopamiinergilistest neuronitest, mis projekteeruvad ventraalsest tegmentaalarast ventraalsesse striatumi (STR) ehk juttkehasse, mille lähedal asub ka naalduv tuum (NAcc) (Ikemoto, 2010). Mesolimbiline juhtetee madal aktiivsus on seotud depressiooniga: näiteks vihjavad sellele fMRI uuringud, mis on täheldanud alanenud STR vastust depressiooni põdevatel noortel ja täiskasvanutel (Forbes & Dahl, 2012).

On näidatud, et DA mängib rolli depressiooni patofüsioloogias (Dunlop & Nemeroff, 2007), mistõttu ei ole üllatav, et näriliste depressiooni mudelite põhjal on leitud, et mesolimbiline juhtetee on seotud nii depressiooni sümptomitega kui ka patogeneesiga (Nestler & Carlezon, 2006).

Lisaks on leitud, et depressioonis inimestel on madalam DA transporterite seondumispotentsiaal tervete inimestega võrreldes, mis viitab kroonilisele dopamiini ammendumisele (Meyer et al., 2001). Ka HR/LR-rottide paradigmat kasutades on leitud, et HR-rottidel on naalduvas tuumas rohkem spontaanseid DA vabastamise sündmusi, s.t. DA tase on kõrgem, võrreldes LR-rottidega, kes oma fenotüübilt on madalama aktiivsusega (Flagel et al., 2010). Mällo jt (2007) on samuti erineva uudistamisaktiivsusega rotte uurides leidnud, et basaalsed ja stimuleeritud ekstratsellulaarsed DA tasemed on madalamad LE-rottidel, kes sarnanevad fenotüübilt pigem depressioonilaadsele, kui HE-rottidel. Sarnaseid tulemusi on leitud ka hiljem: Altoa jt (2009) leidsid, et kõrge uudistamisaktiivsus on seotud kõrgema ekstratsellulaarse DA tasemega ning suurema D2 retseptorite hulgaga.

DA metaboliseerub kolmeks järgnevaks erinevaks aineks: 3,4-dihüdroksüfenüüläädikhappeks (DOPAC), homovaniliinhappeks (HVA) ja 3-metoksütüramiiniks (3-MT). Metaboliitide tasemete uurimine on samuti oluline, kuna see annab meile terviklikuma pildi sellest, mis biokeemilised protsessid ajus toimuvad. DA käivet uurides on leitud, et HR-rottidel on suurem DA käive juttkehas ja naalduvas tuumas võrreldes LR-rottidega, kuigi DA tasemed olulisel määral ei erinenud (Piazza et al., 1991). Lisaks on leitud, et olfaktoorse bulbektoomia abil indutseeritud depressiooniga rottidel on madalam DA, DOPAC ja HVA tase tervete rottidega võrreldes (Ruda-Kucerova et al., 2015).

1.3. Neurotrofiin GDNF

Gliia rakuliinidest saadud neurotrofiin (GDNF) on proteiin, mis kuulub transformeeriva kasvufaktori β perekonda, ning seda on peetud mõjusaks dopamiinergiliste neuronite säilumist soodustavaks faktoriks (Airaksinen & Saarma, 2002). GDNF-il on täheldatud kaitsvat mõju neurotoksiinide, nagu 6-hüdroksüdopamiin, poolt põhjustatud ajukahjustustest tingitud käitumuslike defitsiitide vastu: vaid ühest annusest keskajju piisab, et kaitsvat mõju indutseerida vähemalt neljaks nädalaks (Kearns & Gash, 1995; Winkler, Sauer, Lee, & Björklund, 1996). Lisaks sellele on tõendatud erinevate neurotrofiinide tähtsust mesolimbilisele juhtetele: näiteks on täheldatud, et neurotrofiin BDNF on kriitiline selleks, et muuta neuronite aktiivsusest tulenevalt neuraalsete võrgustike struktuuri ning just nende võrgustike toimimine on see, mis määrab, kas käitumuslik vastus on pigem depressioonilaadne või mitte (Castrén, Võikar, & Rantamäki, 2007).

Kuigi üldjuhul on nähtud GDNF-i potentsiaalse Parkinsoni ravi mudeli alusmehhanismina (Tarazi, Sahli, Wolny, & Mousa, 2014; Zurn, Widmer, & Aebischer, 2001), on GDNF mõju

uuritud ka teistele psühhopatoloogiatele, nt sõltuvuse ravi eesmärgil (Messer et al., 2000). Hiirtel on täheldatud, et stressist võivad tuleneda GDNF-i sünteesi mõjutavad epigeneetilised muutused, mis omakorda suurendavad depressiooniga seotud käitumismustrite hulka (Uchida et al., 2011). Samuti on leitud, et GDNF-defitsiitsetel rottidel on kroonilise ennustamatu stressi järgselt häirunud latentne inhibitsioon (selektiivse tähelepanu ja õppimise indikaator), vähenenud neuronaalne aktivatsioon naalduva tuuma säsis ja suurenenud aktivatsioon naalduva tuuma kooses kontrollgrupiga võrreldes (Buhusi, Brown, & Buhusi, 2017). Need uuringud viitavad GDNF-i seosele teiste stressist tingitud patoloogiliste käitumistega.

On teada, et dopamiinergiline neurotransmission on seotud ka depressiooni sümptomaatikaga (Dunlop & Nemeroff, 2007), mistõttu võiks eeldada ka dopamiinisüsteemi mõjutavalt ravimitelt raviefekti. O'Leary jt (2016) näitasid basaalseid ekstratsellulaarseid dopamiini ja serotoniini kontsentratsioone juttkehas analüüsides uudistavate rottide peal, et depressioonile sarnase fenotüübiga rotid (LE-rotid) on vähem tundlikumad antidepressantide neurokeemilistele mõjudele. Lähtudes eelnevast ning teades, et GDNF tugevdab dopamiinergilise süsteemi ekspressiooni (Choi-Lundberg et al., 1997), mis LE-rottidel on madalam kui HE-rottidel, on oluline uurida GDNF-i mõju erineva uudistamisaktiivsusega rottide dopamiinergilisele süsteemile, kuna selline geeniteraapia võib olla alternatiivseks ravimeetodiks praeguste antidepressantide kõrval.

Käesolev töö uurib GDNF-i mõju dopamiini (DA) ja dopamiini metaboliidi 3,4-dihüdroksüfenüüläädikhape (DOPAC) tasemetele.

Eelnevast tulenevalt püsitatakse töös järgnevad hüpoteesid:

Hüpotees 1: Madala uudistamisaktiivsusega rottidel tõstab GDNF-i reguleeriva geeni ekspressiooni suurendamine DA tasemeid nii juttkehas kui ka naalduvas tuumas.

Hüpotees 2: Madala uudistamisaktiivsusega rottidel tõstab GDNF-i reguleeriva geeni ekspressiooni suurendamine DOPAC tasemeid nii juttkehas kui ka naalduvas tuumas.

Töö autori ülesandeks oli teemakohase materjali läbi töötamine, selle põhjal hüpoteeside püstitamine ning juba varasemalt kogutud andmete analüüs ning tõlgendamine hüpoteesidest lähtuvalt.

2. Meetod

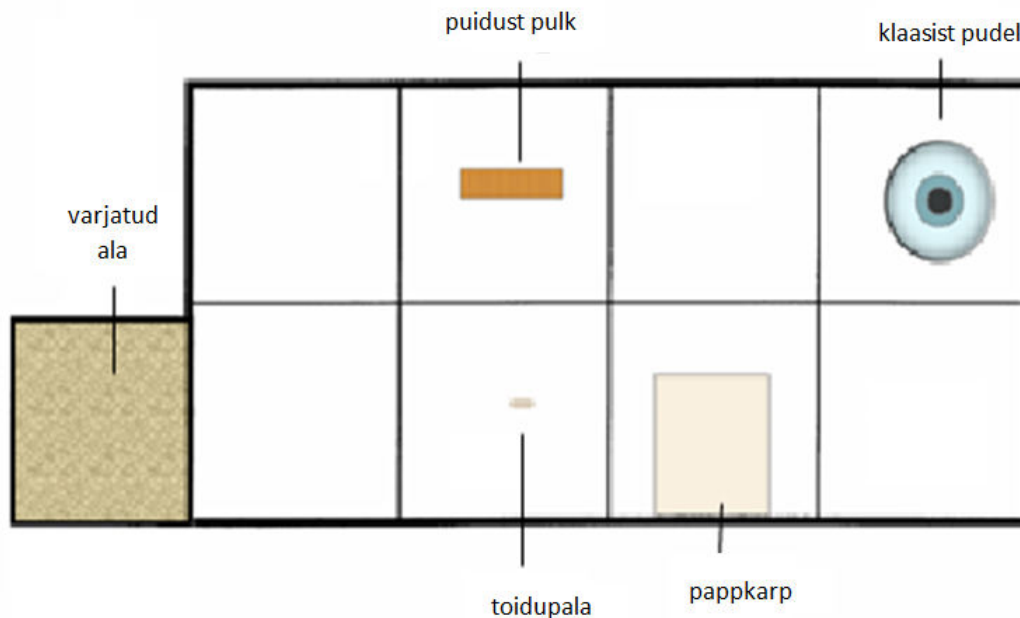
2.1. Katseloomad

Katses kasutatud 37 isast Wistari rotti hoiti grupiti standardsetesse puuridesse jaotatuna reguleeritud õhutemperatuuriga ja valgustusega vivaariumis. Loomadele oli tagatud ligipääs veele ja toidule. Katsete läbiviimisel juhitud Euroopa Nõukogu direktiividest.

2.2. Katseprotseduur

Uudiskasti testi (vt joonis 1) abil määrati rotid vastavalt LE- või HE-gruppidesse, misjärel jagati saadud grupid kaheks: GDNF-grupp ning kontrollgrupp.

Kõigile rottidele teostatakse stereotaktilist süstimist juttkehasse 10 µl Hamiltoni süstlaga bilateraalset 1 ul kiirusega 0,5µl/min (koordinaadid Paxinose ja Watsoni (1986) järgi: AP +0.7 mm, ML ±3.0 mm bregmast ja DV -6.0 mm durast). Katsegruppide HE ja LE loomadele süstitakse stereotaktilise operatsiooni käigus adenossotsieeritud viiruse 2. serotüübi vektorit (AAV2), mis kodeerib gliiast pärit närvikasvufaktorit GDNF. Kontrollgruppide HE ja LE loomadele süstitakse AAV2 kontrollviirusvektorit.



Joonis 1: Uudiskasti skeem.

Pärast 14 päeva rotid dekapiteeriti, sellejärgselt koguti nende ajukude ning hoiustati edasisteks analüüsideks – 80° C juures.

2.3.Mõõtmised

Monoamiinide ja nende metaboliitide sisaldust ajukoes mõõdeti kõrgrõhuvedelikkromatograafia (HPLC) abil. Ajukoe proovid homogeniseeriti ultraheli homogenisaatoriga (Bandelin Sonupuls, Germany) külmas 0,1 M perkloorhappes (30 või 50 µl/mg, naalduvas tuumas ja juttkehas vastavalt), mis sisaldas 5 mM naatrium disulfitit ja 0,4 mM EDTA) lahust. Homogenaadid tsentrifugeeriti (14 000 pööret/min) 10 minutit 4 °C juures. Seejärel süstiti 10 µl supernanti HPLC süsteemi voolutades 0,05 M naatriumtsitraadi puhvriga (0,02 mM EDTA, 1 mM KCl, 1 mM naatrium oktanesulfonaat ja 7,5% atsetonitriil) kasutades Luna C18(2) kolonni (150 x 2 mm, 5 µm) 30 °C juures. Kõrgrõhuvedelikkromatograafi süsteemi kuulus isokraatiline pump (Hewlett Packard HP1100 Saksamaa), temperatuur-reguleeritud automatiseeritud sampler, temperatuur-reguleeritud kolonni sektsioon ning elektrokeemiline detektor (HP 1049, Agilent, Waldbronn, Saksamaa) klaassüsinik elektroodiga. Mõõtmised teostati elektroodi potentsiaalil +0,7 V (vs Ag/AgCl võrdluselektrood). Detekteerimispiirid olid järgmised: 0,08 pmol/mg koe kohta DA ja 0,05 pmol/mg koe kohta DOPAC jaoks.

2.4. Statistiline analüüs

Andmete analüüsiks kasutati IBM SPSS Statistics 21 programmi. Kontrolliti HE- ja LE-rottide DA ja DOPAC tasemete erinevust. Tulenevalt normaaljaotusele mittevastavusest viidi läbi mitteparameetrilised testid nii LE-rottidel kui ka HE-rottidel DA ja DOPAC tasemete võrdlemiseks, sõltumatuks muutujaks oli GDNF manipulatsioon. Hüpooteesidele toetudes arvutati ka välja DA käive, s.o. DOPAC ja DA tasemete suhe, nii juttkehas kui ka naalduvas tuumas.

3. Tulemused

Valimiks olnud rotid olid jaotatud kahe gruppi uudistamiskastiparadigma järgi: LE-rotte oli valimis 31 ja HE-rotte 6. Selgus, et HE- ja LE-rottidel, arvestamata manipulatsioone, ei ole statistiliselt olulisi erinevusi DA ja DOPAC tasemetes nii striatumis kui ka naalduvas tuumas (vt tabel 1).

Tabel 1: Keskmiste DA ja DOPAC tasemete võrdlus juttkehas (STR) ja naalduvas tuumas (NAcc) koos standardhälbega (pmol/mg) HE- ja LE-rottidel.

	HE keskmine (pmol/mg)	LE keskmine (pmol/mg)	Statistiline olulisus
DA tase STR-s	50,98 ± 22,1	59,26 ± 8,8	0,533
DA tase NAcc-s	56,04 ± 9,2	55,07 ± 11,3	0,888
DOPAC tase STR-s	7,21 ± 0,9	6,70 ± 1,6	0,135
DOPAC tase NAcc-s	10,95 ± 4,0	9,42 ± 2,3	0,673

HE-rottide DA ja DOPAC tasemeid uurides, kasutades Mann-Whitney U-testi, leiti, et manipulatsioon ei mõjutanud DA ega DOPAC tasemeid (vt tabel 2).

Tabel 2: HE-rottide keskmiste DA ja DOPAC tasemete võrdlus juttkehas (STR) ja naalduvas tuumas (NAcc) koos standardhälbega (pmol/mg) kontrollgrupil ja manipulatsiooni saanud grupil. Statistiliselt olulised erinevused on märgitud (*), p < 0,05.

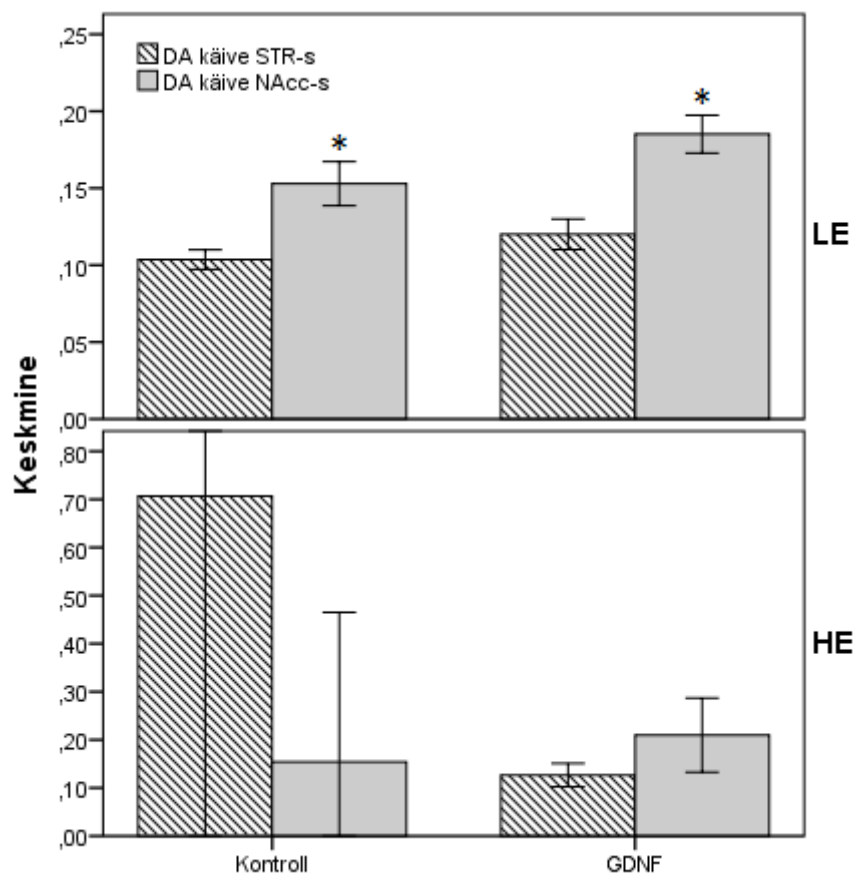
	Kontroll (n=2)	GDNF (n=4)	Statistiline olulisus
DA tase STR-s	40,14 ± 49,56	56,41 ± 6,5	1,0
DOPAC tase STR-s	7,37 ± 1,0	7,14 ± 1,1	0,800
DA tase NAcc-s	50,63 ± 6,9	58,75 ± 11,2	0,533
DOPAC tase NAcc-s	7,68 ± 1,0	12,59 ± 4,6	0,533

Analüüsidest GDNF manipulatsiooni mõju LE-rottidele, kasutades Mann-Whitney U-testi, selgus, et manipulatsioon tõstis DOPAC tasemeid nii juttkehas kui ka naalduvas tuumas, kuid ei mõjutanud DA tasemeid (vt tabel 3). Seega sai kinnitust teine hüpotees, kuid mitte esimene.

Tabel 3: LE-rottide keskmiste DA ja DOPAC tasemete võrdlus juttkehas (STR) ja naalduvas tuumas (NAcc) koos standardhälbega (pmol/mg) kontrollgrupil ja manipulatsiooni saanud grupil. Statistiliselt olulised erinevused on märgitud (*), $p < 0,05$.

	Kontroll (n=13)	GDNF (n=18)	Statistiline olulisus
DA tase STR-s	59,11 ± 6,5	59,37 ± 10,7	0,798
DOPAC tase STR-s	6,10 ± 0,7	7,14 ± 1,9	0,046(*)
DA tase NAcc-s	51,94 ± 10,1	57,34 ± 12,1	0,183
DOPAC tase NAcc-s	7,87 ± 1,6	10,53 ± 2,2	0,001(*)

Lisaks eelmainitud analüüsidele vaadeldi ka dopamiini käivet (s.o. DOPAC/DA suhet).



Joonis 2: Keskmine dopamiini käive juttkehas ja naalduvas tuumas vastavalt manipulatsioonile ja uudistamisaktiivsusele. * - $p < 0,01$, veapiirid – 95% usalduspiirid.

DA käive naalduvas tuumas LE-rottidel vastas normaaljaotusele ning T-testi läbi viies leiti statistiliselt oluline erinevus nende rottide, kes said GDNF manipulatsiooni, ning nende vahel, kes seda ei saanud, $t(29) = -2,714$, $p < 0,01$, $d = -0,988$. Mann-Whitney U-testiga leiti, et ka juttkeha DA käives on LE-rottidel statistiliselt oluline erinevus GDNF manipulatsiooniga rottide ja kontrollgrupi vahel, $U(29) = 183$, $p < 0,01$, $d = 1,078$.

Vastupidiselt LE-rottidele, statistiliselt olulisi erinevusi HE-rottidel ei leitud (vt joonis 2).

4. Arutelu

Antud töö eesmärgiks oli uurida GDNF mõju dopamiini tasemetele juttkehas ja naalduvas tuumas. Seda tehti analüüsides DA ja DOPAC tasemeid ning DA käivet juttkehas ja naalduvas tuumas erineva uudistamisaktiivsusega rottidel.

Tulemuste põhjal sai kinnitust teine hüpotees: nimelt tõusis väheuudistavatel rottidel DOPAC tasemed nii juttkehas kui ka naalduvas tuumas. Kinnitust ei saanud esimene hüpotees, s.t. GDNF geeni ekspressiooni tõstmine ei mõjutanud DA tasemeid juttkehas ega naalduvas tuumas. See on kooskõlas ka varasema kirjandusega: Martin jt (1996) uurisid GDNF mõju juttkehale ja mustollusele, kasutades samuti kõrgsurve-vedelikkromatograafiat, ning leidsid, et GDNF manustamine juttkehasse tõstab DA metaboliitide tasemeid, mõjutamata DA tasemeid. Seda tendentsi on täheldatud ka *in vivo* meetoditega: näiteks on mikrodialüüsi meetodi abil uuritud nii DA kui ka DOPAC tasemeid GDNF ravi korral ja leitud, et GDNF ravi tõstab olulisel määral DOPAC tasemeid, kuid ei mõjuta oluliselt DA tasemeid juttkehas (Hebert, Horne, Hoffer, & Gerhardt, 1996). Ka uuem teaduskirjandus on leidnud, et GDNF suurendab DA käivet (Grondin et al., 2018).

Teades, et DOPAC on üks kolmest DA metaboliitidest, võib eeldada, et GDNF mõjul on tõusnud DA lagundamisprotsessi kiirus. Seega võib öelda, et GDNF ekspressiooni tõstmine mõjutab dopamiinergilist süsteemi LE-rottidel, eelkõige metabolismi muutmise kaudu. Seda mõttekäiku toetavad DA käivet puudutavad tulemused, mis viitasid sellele, et GDNF manipulatsiooni saanud rottidel oli suurem DA käive kui nendel, kes seda ei saanud.

Peab mainima, et üheks töö puuduseks on väheste HE-rottide hulk valimis. Antud valimi puhul selgus ka, et HE- ja LE-rottide vahel ei olnud erinevust DA ja DOPAC tasemetes, mis on vastuolus varasema kirjandusega (Altoa et al., 2009, Mällo et al., 2007), kus täheldati HE-rottidel oluliselt kõrgemaid basaalseid ja ekstratsellulaarseid DA tasemeid juttkehas. See võib olla tingitud just HE-rottide puudutavate andmete vähesusest.

Kokkuvõtvalt võib öelda, et GDNF mõjutab dopamiini metabolismi. Seda tõendab asjaolu, et dopamiini käive suurenes ning samuti tõusis dopamiini metaboliidi DOPAC tase nii juttkehas kui ka naalduvas tuumas.

Edaspidi peaks kindlasti samalaadsed katsed läbi viima suurema HE-grupiga. Lisaks võiks uurida ka teisi DA metaboliitide homovaniliinhappe (HVA) ja 3-metoksütüramiini (3-MT) tasemeid ja nende muutusi GDNF manipulatsiooni korral erineva uurimisaktiivsusega rottidel.

Kuna on teada, et nii depressioonis patsientidel kui ka katseloomadel on madalam HVA tase, mis viitab madalamale DA käivele (Ruda-Kucerova et al., 2015; Sher et al., 2006), siis võiks GDNF manipulatsiooni korral eeldada ka HVA taseme tõusu. Analoogselt saab eeldada 3-MT tõusu, kuna ka see metaboliit on depressiivsetel rottidel madalama tasemega (Sarkisova et al., 2013). Teema edasine uurimine on oluline selleks, et mõista biokeemilisi protsesse ajus, mida mõjutades võime leida paremini toimivaid meeleoluhäirete ravimeetodeid.

Kasutatud kirjandus

Airaksinen, M. S., & Saarma, M. (2002). The GDNF family: Signalling, biological functions and therapeutic value. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(5), 383–394.

<https://doi.org/10.1038/nrn812>

Alttoa, A., Kõiv, K., Hinsley, T. A., Brass, A., & Harro, J. (2010). Differential gene expression in a rat model of depression based on persistent differences in exploratory activity. *European Neuropsychopharmacology*, 20, 288–300.

<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2009.09.005>

Alttoa, A., Seeman, P., Kõiv, K., Eller, M., & Harro, J. (2009). Rats with persistently high exploratory activity have both higher extracellular dopamine levels and higher proportion receptors in the striatum. *Synapse*, 53, 443–446.

<https://doi.org/10.1002/syn.20620>

Blanchard, M. M., Mendelsohn, D., & Stamp, J. A. (2009). The HR/LR model: Further evidence as an animal model of sensation seeking. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(7), 1145–1154. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.05.009>

Buhusi, M., Brown, C. K., & Buhusi, C. V. (2017). Impaired Latent Inhibition in GDNF-Deficient Mice Exposed to Chronic Stress. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11.

<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00177>

Choi-Lundberg, D. L., Lin, Q., Chang, Y.-N., Chiang, Y. L., Hay, C. M., Mohajeri, H., ...

Bohn, M. C. (1997). Dopaminergic Neurons Protected from Degeneration by GDNF Gene Therapy. *Science*, 275(5301), 838–841.

<https://doi.org/10.1126/science.275.5301.838>

Coppen, A. (1967). The Biochemistry of Affective Disorders. *The British Journal of Psychiatry*, 113(504), 1237–1264. <https://doi.org/10.1192/bjp.113.504.1237>

- Dunlop, B. W., & Nemeroff, C. B. (2007). The Role of Dopamine in the Pathophysiology of Depression. *Archives of General Psychiatry*, *64*(3), 327–337.
<https://doi.org/10.1001/archpsyc.64.3.327>
- Flagel, S. B., Robinson, T. E., Clark, J. J., Clinton, S. M., Watson, S. J., Seeman, P., ... Akil, H. (2010). An Animal Model of Genetic Vulnerability to Behavioral Disinhibition and Responsiveness to Reward-Related Cues: Implications for Addiction. *Neuropsychopharmacology*, *35*(2), 388–400. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.142>
- Forbes, E. E., & Dahl, R. E. (2012). Altered Reward Function in Adolescent Depression: What, When, and How? *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, *53*(1), 3–15. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2011.02477.x>
- Gosling, S. D. (2001). From mice to men: what can we learn about personality from animal research? *Psychological Bulletin*, *127*(1), 45–86. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.127.1.45>
- Grondin, R., Littrell, O. M., Zhang, Z., Ai, Y., Huettl, P., Pomerleau, F., ... Gerhardt, G. A. (2018). GDNF revisited: A novel mammalian cell-derived variant form of GDNF increases dopamine turnover and improves brain biodistribution. *Neuropharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.05.014>
- Harro, J. (1993). Measurement of exploratory behaviour in rodents. In R. A. Conn (Ed.), *Methods in neurosciences* (14th ed., pp. 359–377). San Diego: Academic Press, Inc.
- Harro, J., Oreland, L., Vasar, E., & Bradwejn, J. (1995). Impaired exploratory behaviour after DSP-4 treatment in rats: implications for the increased anxiety after noradrenergic denervation. *European Neuropsychopharmacology*, *5*, 447–455.
- Hebert, M. A., Horne, C. G. V., Hoffer, B. J., & Gerhardt, G. A. (1996). Functional effects of GDNF in normal rat striatum: presynaptic studies using in vivo electrochemistry and

- microdialysis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 279(3), 1181–1190.
- Ikemoto, S. (2010). Brain reward circuitry beyond the mesolimbic dopamine system: A neurobiological theory. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(2), 129–150. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.02.001>
- Kabbaj, M., Devine, D. P., Savage, V. R., & Akil, H. (2000). Neurobiological Correlates of Individual Differences in Novelty-Seeking Behavior in the Rat: Differential Expression of Stress-Related Molecules. *Journal of Neuroscience*, 20(18), 6983–6988. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-18-06983.2000>
- Kapur, S., & John Mann, J. (1992). Role of the dopaminergic system in depression. *Biological Psychiatry*, 32(1), 1–17. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(92\)90137-O](https://doi.org/10.1016/0006-3223(92)90137-O)
- Kearns, C. M., & Gash, D. M. (1995). GDNF protects nigral dopamine neurons against 6-hydroxydopamine in vivo. *Brain Research*, 672(1), 104–111. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)01366-P](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01366-P)
- Landgraf, R., & Wigger, A. (2002). High vs Low Anxiety-Related Behavior Rats: An Animal Model of Extremes in Trait Anxiety. *Behavior Genetics*, 32(5), 301–314. <https://doi.org/10.1023/A:1020258104318>
- Mällo, T., Altho, A., Kõiv, K., Tõnissaar, M., Eller, M., & Harro, J. (2007). Rats with persistently low or high exploratory activity: Behaviour in tests of anxiety and depression, and extracellular levels of dopamine. *Behavioural Brain Research*, 177, 269–281. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.11.022>
- Martin, D., Miller, G., Cullen, T., Fischer, N., Dix, D., & Russell, D. (1996). Intranigral or intrastriatal injections of GDNF: effects on monoamine levels and behavior in rats. *European Journal of Pharmacology*, 317(2–3), 247–256. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00756-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00756-X)

- Messer, C. J., Eisch, A. J., Carlezon, W. A., Whisler, K., Shen, L., Wolf, D. H., ... Nestler, E. J. (2000). Role for GDNF in Biochemical and Behavioral Adaptations to Drugs of Abuse. *Neuron*, 26(1), 247–257. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81154-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81154-X)
- Meyer, J. H., Krüger, S., Wilson, A. A., Christensen, B. K., Goulding, V. S., Schaffer, A., ... Kennedy, S. H. (2001). Lower dopamine transporter binding potential in striatum during depression. *Neuroreport*, 12(18), 4121–4125.
- Nestler, E. J., & Carlezon, W. A. (2006). The Mesolimbic Dopamine Reward Circuit in Depression. *Biological Psychiatry*, 59(12), 1151–1159.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.09.018>
- Pawlak, C. R., Ho, Y.-J., & Schwarting, R. K. W. (2008). Animal models of human psychopathology based on individual differences in novelty-seeking and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(8), 1544–1568.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.06.007>
- Piazza, P. V., Deminière, J. M., Le, M. M., & Simon, H. (1989). Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science (New York, N.Y.)*, 245(4925), 1511–1513. <https://doi.org/10.1126/science.2781295>
- Piazza, P. V., Rougé-Pont, F., Deminière, J. M., Kharoubi, M., Le Moal, M., & Simon, H. (1991). Dopaminergic activity is reduced in the prefrontal cortex and increased in the nucleus accumbens of rats predisposed to develop amphetamine self-administration. *Brain Research*, 567(1), 169–174. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91452-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91452-7)
- Ruda-Kucerova, J., Amchova, P., Havlickova, T., Jerabek, P., Babinska, Z., Kacer, P., ... Sustkova-Fiserova, M. (2015). Reward related neurotransmitter changes in a model of depression: An in vivo microdialysis study. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 16(7), 521–535. <https://doi.org/10.3109/15622975.2015.1077991>

Sarkisova, Ki., Kulikov, M. A., Kudrin, V. S., Narkevich, V. B., Midzianovskaia, I. S.,

Biriukova, L. M., ... Basian, A. S. (2013). Neurochemical mechanisms of depression-like behavior in WAG/Rij rats. *Zhurnal vysshei nervnoi deiatelnosti imeni I P*

Pavlova, 63(3), 303–315. <https://doi.org/10.7868/S0044467713030106>

Sher, L., Mann, J. J., Traskman-Bendz, L., Winchel, R., Huang, Y., Fertuck, E., & Stanley, B.

H. (2006). Lower cerebrospinal fluid homovanillic acid levels in depressed suicide attempters. *Journal of Affective Disorders*, 90(1), 83–89.

<https://doi.org/10.1016/j.jad.2005.10.002>

Stead, J. D. H., Clinton, S., Neal, C., Schneider, J., Jama, A., Miller, S., ... Akil, H. (2006).

Selective Breeding for Divergence in Novelty-seeking Traits: Heritability and Enrichment in Spontaneous Anxiety-related Behaviors. *Behavior Genetics*, 36(5), 697.

<https://doi.org/10.1007/s10519-006-9058-7>

Tarazi, F. I., Sahli, Z. T., Wolny, M., & Mousa, S. A. (2014). Emerging therapies for

Parkinson's disease: From bench to bedside. *Pharmacology & Therapeutics*, 144(2), 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.05.010>

Uchida, S., Hara, K., Kobayashi, A., Otsuki, K., Yamagata, H., Hobara, T., ... Watanabe, Y.

(2011). Epigenetic Status of Gdnf in the Ventral Striatum Determines Susceptibility and Adaptation to Daily Stressful Events. *Neuron*, 69(2), 359–372.

<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.12.023>

Winkler, C., Sauer, H., Lee, C. S., & Björklund, A. (1996). Short-Term GDNF Treatment

Provides Long-Term Rescue of Lesioned Nigral Dopaminergic Neurons in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Journal of Neuroscience*, 16(22), 7206–7215.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-22-07206.1996>

Zurn, A. D., Widmer, H. R., & Aebischer, P. (2001). Sustained delivery of GDNF: towards a treatment for Parkinson's disease. *Brain Research Reviews*, 36(2), 222–229.

[https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(01\)00098-4](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(01)00098-4)

Käesolevaga kinnitan, et olen korrekselt viidanud kõigile oma töös kasutatud teiste autorite poolt loodud kirjalikele töödele, lausetele, mõtetele, ideedele või andmetele.

Olen nõus oma töö avaldamisega Tartu Ülikooli digitaalarhiivis DSpace.

Susanna Soomets