University of Reading

Behavioral pharmacology as the main approach to study the efficiency of potential psychotropic drugs: analysis of modern methods (review)

Article

Published Version

Creative Commons: Attribution 4.0 (CC-BY)

open access

Semina, I. I., Baichurina, A. Z., Nikitin, D. O., Nikitina, A. V., Moustafine, R. I. and Khutoryanskiy, V. V. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7221-2630 (2023) Behavioral pharmacology as the main approach to study the efficiency of potential psychotropic drugs: analysis of modern methods (review). Drug development & registration, 12 (1). pp. 161-181. ISSN 2658-5049 doi: 10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181 Available at https://centaur.reading.ac.uk/110955/

It is advisable to refer to the publisher's version if you intend to cite from the work. See Guidance on citing.

Identification Number/DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181
<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181>

Publisher: LLC Center of Pharmaceutical Analytics

All outputs in CentAUR are protected by Intellectual Property Rights law, including copyright law. Copyright and IPR is retained by the creators or other

University of Reading

copyright holders. Terms and conditions for use of this material are defined in the End User Agreement.

www.reading.ac.uk/centaur

CentAUR

Central Archive at the University of Reading

Reading's research outputs online

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181
УДК 615.032: 615.035

Check for updates

CC BY 4.0

Обзорная статья / Review article

Поведенческая фармакология как основной подход в изучении эффективности потенциальных психотропных средств: анализ современных методов (обзор)

И. И. Семина[1,2]✉, А. З. Байчурина[2], Д. О. Никитин[2], А. В. Никитина[2], Р. И. Мустафин[1,4]✉✉, В. В. Хуторянский[3]

[1] Центральная научно-исследовательская лаборатория, ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, 420012, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Толстого, д. 6/30
[2] Кафедра фармакологии, ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, 420012, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Толстого, д. 6/30
[3] Reading School of Pharmacy, University of Reading, Whiteknights, PO box 224, Reading RG66AD, United Kingdom
[4] Институт фармации, ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, 420126, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Фатыха Амирхана, д. 16

✉ **Контактное лицо:** Семина Ирина Ивановна. **E-mail:** seminai@mail.ru
✉✉ **Контактное лицо:** Мустафин Руслан Ибрагимович. **E-mail:** ruslan.mustafin@kazangmu.ru

ORCID: И. И. Семина – https://orcid.org/0000-0003-3515-0845; А. З. Байчурина – https://orcid.org/0000-0002-7779-6583;
Д. О. Никитин – https://orcid.org/0000-0001-5773-867X; А. В. Никитина – https://orcid.org/0000-0001-6219-6246;
Р. И. Мустафин – https://orcid.org/0000-0002-0916-2853; В. В. Хуторянский – https://orcid.org/0000-0002-7221-2630.

Статья поступила: 08.07.2022 **Статья принята в печать:** 00.02.2023 **Статья опубликована:** 24.02.2023

Резюме

Введение. Поведенческие методы на лабораторных животных признаны основным подходом при изучении активности потенциальных психотропных средств и позволяют оценить основные эффекты новых соединений, повысить возможность прогнозирования удачного исхода будущих клинических испытаний.

Текст. В предлагаемой обзорной статье осуществлен анализ основных современных поведенческих моделей на грызунах, широко применяемых для скрининга и изучения фармакологической активности потенциальных психотропных средств. Выделены преимущества и недостатки каждого теста и продемонстрированы комплексы поведенческих методов, наиболее доказательно подтверждающих воспроизводимость полученных результатов при клинических испытаниях. Проведено описание и оценка поведенческих методов, характеризующих состояние тревожности, которые используются для скрининга новых соединений с анксиолитической активностью (тесты «Открытое поле», «Темно-светлая камера», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Последовательность лучей»). Широко представлен спектр тестов, применяемых для изучения когнитивных функций и процессов памяти (различные лабиринты – Т-образный, У-образный, радиальный лабиринт, лабиринт Барнс, Е-лабиринт; водные лабиринты – Морриса, Т-лабиринт) с описанием сравнительного анализа и необходимых условий, обеспечивающих достоверность информации. Важным направлением в области поведенческой фармакологии является моделирование нарушений социального поведения и исследование подходов для его коррекции – основные методы, необходимые для исследования социального поведения, представлены в обзоре тестами «Трехкамерный социальный тест», тест «Открытое поле» расширенный и др.

Заключение. Фармакология поведения диктует необходимость тесного взаимодействия доклинических и клинических этапов исследований в рамках развития трансляционной медицины и разработки подходов, доказательно подтверждающих воспроизводимость полученных результатов при клинических испытаниях. Необходимы также усовершенствование существующих и разработка новых поведенческих моделей психических расстройств, и поиск новых путей к изучению механизмов формирования нарушений поведения.

Ключевые слова: поведенческие методы, психофармакология, когнитивные функции, тревожные расстройства, социальное поведение, психопатологические состояния, грызуны, видеотрекинг

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. И. И. Семина произвела обработку материалов, подготовку драфта статьи. Д. О. Никитин проводил сбор материалов, подготовку и оформление рисунков. А. З. Байчурина, А. В. Никитина, Р. И. Мустафин и В. В. Хуторянский участвовали в написании, редактировании и анализе материалов, рецензировании и корректировке драфта манускрипта. Манускрипт был написан при участии всех соавторов. Все вышеуказанные авторы согласовали итоговую версию манускрипта.

Благодарность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда в рамках научного проекта № 20-65-46007.

Для цитирования: Семина И. И., Байчурина А. З., Никитин Д. О., Никитина А. В., Мустафин Р. И., Хуторянский В. В. Поведенческая фармакология как основной подход в изучении эффективности потенциальных психотропных средств: анализ современных методов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(1):161–181. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181

Behavioral Pharmacology as the Main Approach to Study the Efficiency of Potential Psychotropic Drugs: Analysis of Modern Methods (Review)

Irina I. Semina[1,2]✉, Afrida Z. Baichurina[2], Dmitry O. Nikitin[2], Anastasiya V. Nikitina[2], Rouslan I. Moustafine[1,4]✉✉, Vitaliy V. Khutoryanskiy[3]

© Семина И. И., Байчурина А. З., Никитин Д. О., Никитина А. В., Мустафин Р. И., Хуторянский В. В., 2023
© Semina I. I., Baichurina A. Z., Nikitin D. O., Nikitina A. V., Moustafine R. I., Khutoryanskiy V. V., 2023

[1] Central Research Laboratory, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, 6/30, Tolstoy str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420012, Russia
[2] Department of Pharmacology, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, 6/30, Tolstoy str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420012, Russia
[3] Reading School of Pharmacy, University of Reading, Whiteknights, PO box 224, Reading RG66AD, United Kingdom
[4] Institute of Pharmacy, Kazan State Medical University, 16, Fatykha Amirkhan str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420126, Russia

✉ **Corresponding author:** Irina I. Semina. **E-mail:** seminai@mail.ru
✉✉ **Corresponding author:** Rouslan I. Moustafine. **E-mail:** ruslan.mustafin@kazangmu.ru

ORCID: Irina I. Semina – https://orcid.org/0000-0003-3515-0845; Afrida Z. Baichurina – https://orcid.org/0000-0002-7779-6583;
Dmitry O. Nikitin – https://orcid.org/0000-0001-5773-867X; Anastasiya V. Nikitina – https://orcid.org/0000-0001-6219-6246;
Rouslan I. Moustafine – https://orcid.org/0000-0002-0916-2853; Vitaliy V. Khutoryanskiy – https://orcid.org/0000-0002-7221-2630.

Received: 08.07.2022 **Revised:** 00.02.2023 **Published:** 24.02.2023

Abstract

Introduction. Behavioral methods on laboratory animals are recognized as the main approach in studying the activity of potential psychotropic drugs and allow us to evaluate the main effects of new compounds, increase the possibility of predicting a successful outcome of future clinical trials.

Text. This review article analyzes the main modern behavioral models in rodents that are widely used for screening and studying the pharmacological activity of potential psychotropic drugs. The advantages and disadvantages of each test are highlighted and complexes of behavioral methods are demonstrated that most conclusively confirm the reproducibility of the results obtained in clinical trials. The description and evaluation of behavioral methods that characterize the state of anxiety, which are used to screen for new compounds with anxiolytic activity (tests «Open field», «Dark-light chamber», «Elevated plus maze», «Sequence of rays»). The range of tests used to study cognitive functions and memory processes is widely presented (various mazes – T-shaped, U-shaped, radial maze, Barnes maze, E-maze; water mazes – Morris, T-maze) with a description of a comparative analysis and necessary conditions that ensure the reliability of information. An important direction in the field of behavioral pharmacology is the modeling of violations of social behavior and the study of approaches for its correction – the main methods necessary for the study of social behavior are presented in the review by the tests «Three-chamber social test», «Open field» extended test, etc.

Conclusion. Behavioral pharmacology dictates the need for close interaction between preclinical and clinical stages of research in the framework of the development of translational medicine and the development of approaches that provide evidence for the reproducibility of the results obtained in clinical trials. It is also necessary to improve existing and develop new behavioral models of mental disorders and to search for new ways to study the mechanisms of formation of behavioral disorders.

Keywords: behavioral methods, psychopharmacology, cognitive functions, anxiety disorders, psychopathological conditions, video tracking

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Irina I. Semina processed the materials, preparation of a draft article, Dmitry O. Nikitin collected materials, preparation and design of drawings. Afrida Z. Baichurina, Anastasiya V. Nikitina, Rouslan I. Moustafine and Vitaliy V. Khutoryanskiy participated in writing, editing and analyzing materials, reviewing and correcting the manuscript draft. The manuscript was written with the participation of all co-authors. All of the above authors agreed on the final version of the manuscript.

Acknowledgment. The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (RSF) within the framework of the scientific project No. 20-65-46007 (to I.I.S., D.O.N., A.V.N., R.I.M., V.V.K.).

For citation: Semina I. I., Baichurina A. Z., Nikitin D. O., Nikitina A. V., Moustafine R. I., Khutoryanskiy V. V. Behavioral pharmacology as the main approach to study the efficiency of potential psychotropic drugs: analysis of modern methods. *Drug development & registration*. 2023;12(1):161–181. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181

ВВЕДЕНИЕ

Поведенческие методы на лабораторных животных признаны основным подходом при изучении активности потенциальных психотропных средств и позволяют оценить основные эффекты новых соединений, получить некоторые данные об их предполагаемом механизме действия и повысить прогноз благоприятного прогноза клинических испытаний психотропных средств [1–3]. Именно поведенческие методы играют важную инструментальную роль, подтверждая на уровне целостного организма, что исследуемое вещество достигает мишени и взаимодействует с ней адекватным образом.

Основная идея поведенческой фармакологии – использование поведенческого анализа для понимания эффектов биологически активных веществ и лекарственных препаратов. В настоящее время разработан широкий спектр поведенческих тестов, служащих конкретным исследовательским целям. Поведенческие модели используют в качестве скрининговых тестов при разработке новых лекарственных средств (анксиолитиков, нейролептиков, антидепрессантов, улучшающих когнитивные функции и др.) и как инструменты исследования патогенетических механизмов при моделировании различных психических и психопатологических состояний, таких, как например болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, аутистические расстройства, когнитивные нарушения, депрессивные и тревожные состояния и др.

Цель нашей обзорной статьи – анализ основных современных поведенческих моделей на грызунах, широко применяемых для скрининга и изучения фармакологической активности потенциальных психотропных средств.

Ценность и достоверность информации, полученной в поведенческих экспериментах на лабораторных животных, в значительной мере зависит от степени соответствия выбранной модели целям и задачам исследования, а также от соблюдения множества условий. Необходимо обязательно учитывать такие параметры как вид, возраст, пол, генетические линии лабораторных животных, условия их содержания и отношения к ним со стороны экспериментатора, предыдущий опыт тестирования, количество повторений тестов. Результаты эксперимента зависят также от наличия и продолжительности периода адаптации животного к испытательной лаборатории, времени суток при проведении испытаний, уровня освещенности; присутствия или отсутствия экспериментатора в помещении, где проводится опыт. Исследования необходимо проводить на сертифицированном оборудовании с использованием валидизированных методов [4, 5].

В данном обзоре нами описаны только этологические поведенческие методы, которые основаны на характерных аспектах в поведении исследуемых животных, без использования агрессивного воздействия.

Поведенческие тесты для изучения состояния тревожности. Исследование новых лекарственных веществ, влияющих на состояние тревожности (анксиолитики)

Сложная характеристика тревожности у человека свидетельствует о трудностях, связанных с поиском подходящих моделей тревожных состояний у животных. Необходимо провести целый комплекс тестов, чтобы выявить спектр симптомов, которые можно рассматривать как прогностические для терапевтической эффективности анксиолитиков у пациентов. Использование экспериментальных поведенческих моделей для выявления противотревожной активности веществ в фармакологических исследованиях имеет давнюю традицию. Эти методы могут быть конфликтными и неконфликтными. В настоящее время все более популярными становятся неконфликтные методы как наиболее гуманные по отношению к животным, среди которых основное место занимают методы с использованием этологических подходов (рисунок 1)

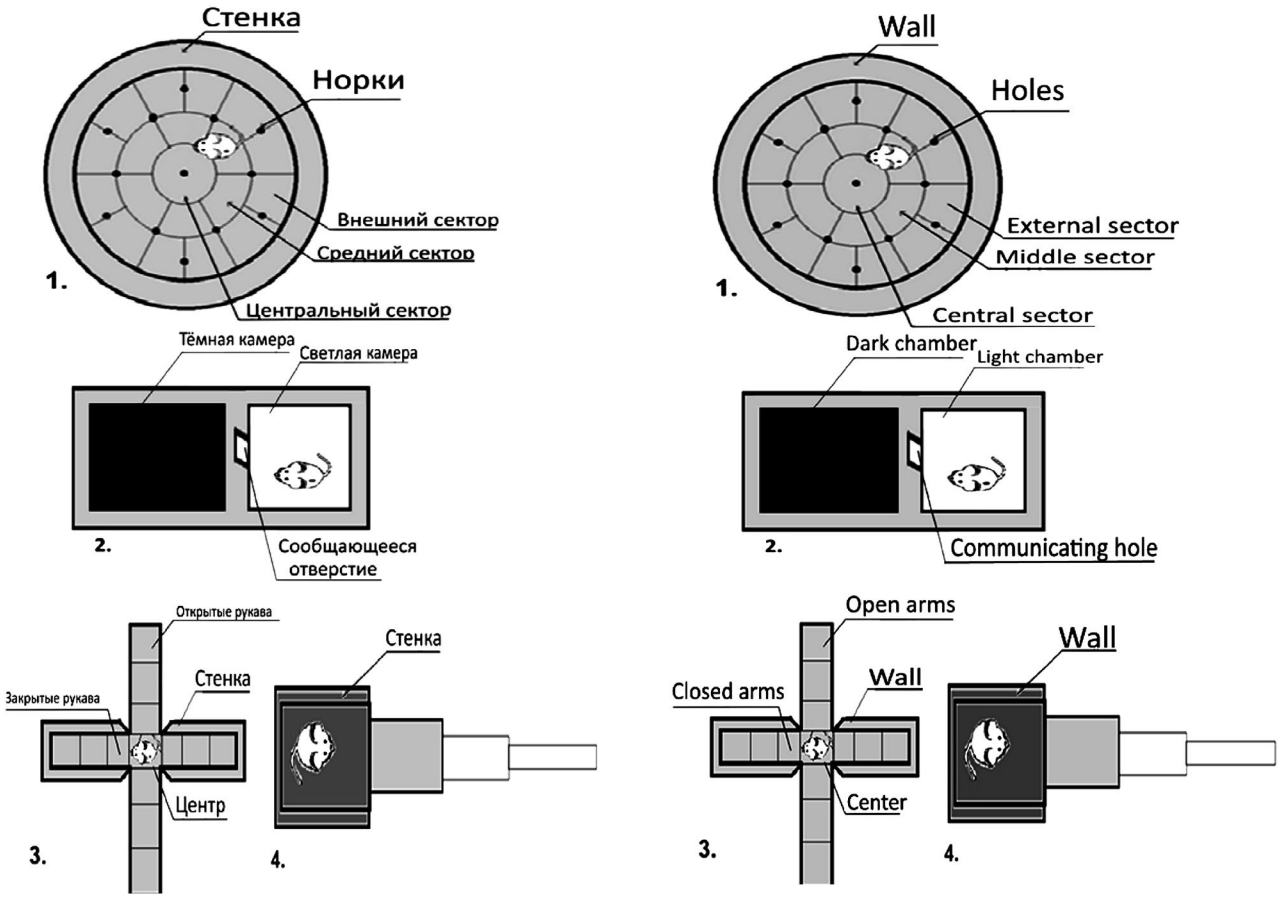


Рисунок 1. Поведенческие методы для исследования тревожности:

1 – тест «Открытое поле» (ОП); 2 – тест «Темно-светлая камера» (ТСК); 3 – тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ); 4 – тест «Последовательность лучей» (ПЛ)

Figure 1. Behavioral methods for the study of anxiety:

1 – test "Open field" (OF); 2 – test "Dark-light chamber" (DLC); 3 – test "Elevated plus maze" (EPM); 4 – test "Successive alleys" (SA)

«Открытое поле» (ОП) – наиболее часто применяемый метод исследования поведения, используемый для изучения состояния тревожности у грызунов и скрининга новых веществ с потенциальной психотропной активностью. Метод впервые был опубликован в 1932 году [6] и подробно описан в 1969 г. [7]. С помощью данного теста можно оценить проявление и динамику отдельных поведенческих элементов, уровень эмоционально-поведенческой активности, уровень исследовательского поведения у мышей и крыс [8, 5, 9, 10].

ОП и условия тестирования в нем довольно разнообразны. Различия касаются формы (круглое, квадратное, прямоугольное), цвета (черное или белое), размера, освещения при тестировании и др. [11–14]. Стандартное, наиболее часто используемое ОП, представляет собой квадратную или круглую площадку, разделенную на 3 ряда равных секторов, на пересечении которых имеются отверстия. Длительность тестирования каждого животного обычно составляет от 3 до 5 мин.

Важным фактором, способным влиять на настроение животных и соответствующие показатели в ОП, является освещенность. К сожалению, во многих публикациях отсутствует информация об освещенности поверхности, что снижает возможность сравнения результатов отдельных исследований. В тех же случаях, когда информация предоставляется, показатели освещенности варьируют в очень широком диапазоне (от 7–8 лк до 600 лк). В работе [13] представлены результаты исследований, демонстрирующие зависимость влияния освещенности на тревожность и исследовательское поведение мышей линии С57 в тесте ОП в контрольных условиях и после применения анксиолитического или анксиогенного агентов. Проведя анализ данных, представленных в этой и других статьях [11, 15, 16], мы сделали вывод, что оптимальными показателями освещенности являются 80–100 лк, так как в этих условиях возникают дискомфорт и тревога у мышей и крыс, в естественных условиях предпочитающих темноту. При исследовании предполагаемой анксиолитической активности изучаемых агентов этот уровень можно повысить до 250–350 лк, а при тестировании стрессогенных и анксиогенных веществ – снизить до 40–30 лк. Следует отметить, что уменьшение интенсивности света до 7–8 лк вообще устраняет световой дискомфорт в ОП [5, 13].

Процедура тестирования обычно начинается с помещения испытуемого животного в центр ОП. Однако некоторые авторы предпочитают начинать тестирование с размещения крысы в углу поля или с краю [10]. В литературе отсутствуют данные о влиянии на общие показатели тестирования места первоначальной посадки животного. В наших экспериментах мы всегда начинаем тестирование и у крыс, и у мышей с центра ОП [17].

Классическими показателями, регистрируемыми в ОП, являются:

1) двигательная активность: горизонтальная (количество пересеченных квадратов) и вертикальная (количество вертикальных стоек грызуна на задних лапах);
2) исследовательская активность (количество обследованных отверстий;
3) груминг (умывание), короткий и длительный;
4) акты дефекации.

Показателем для регистрации горизонтальной двигательной активности является количество пересечений животным одной из сторон квадрата или сектора. По мнению некоторых авторов, следует регистрировать только случаи, когда животное пересекает линию всеми четырьмя лапами [18] в то время как другие авторы регистрируют и пересечение линии передними лапами [19, 20]. По-нашему мнению, достаточно информативна регистрация количества пересечений линий хотя бы двумя передними лапами, так как животное может быть крупным и полностью не помещаться в квадрате или секторе.

Вертикальная двигательная активность в ОП может быть представлена двумя вариантами стоек – либо животное держит передние лапы на весу, либо касается ими стенки поля.

Исследовательская активность оценивается по количеству обследованных отверстий в полу ОП, то есть, по числу обнюхиваний краев отверстий или заглядываний внутрь отверстий головой «по глаза». Последнее наиболее часто подразумевается под «обследованием отверстий».

Груминг у грызунов является одним из поведенческих маркеров стресса и усиливается при помещении животных в незнакомую среду [21]. Подсчитывается количество актов груминга за тестовый период.

Уровень дефекации считается индексом «эмоциональности» животного. Для определения этого показателя рекомендуется подсчитывать не количество болюсов, а число актов дефекации как наиболее точный показатель. Было высказано предположение, что реакция страха (или беспокойства) животного, подвергшегося воздействию новой и, следовательно, потенциально опасной среды, сопровождается повышением уровня дефекации [5].

При тестировании грызунов с моделями психопатологических состояний необходимо учитывать, что основным «симптомом» поведения грызунов в ОП является тревожность, характеризующаяся снижением общей двигательной активности, меньшим процентом времени, проведенным в центральной зоне и более длительным пребыванием в периферийной [9, 10].

Длительность тестирования каждого животного в ОП зависит от целей эксперимента, и обычно составляет от 3 до 5 минут, но иногда увеличивается до 60 мин [12, 22–24]. Необходимо учитывать, что на поведение грызунов в первые 2–4 минуты тестирования

влияют такие эмоциогенные аспекты, как новизна и внезапность, поэтому длительность большинства исследований не превышает 5 мин [10, 17, 20].

В настоящее время многими исследователями для тестирования используются системы видеонаблюдения, позволяющие вести непрерывную запись с последующим анализом полученных результатов с помощью различных компьютерных программ – EthoVision® XT Noldus Inc. (США), ANY-maze, Stoelting CO (США) и др. Это существенно облегчает работу экспериментатора и позволяет расширить возможности теста, зафиксировав дополнительные показатели, такие как общее пройденное расстояние, время, проведенное в центральной и периферийной зоне, пройденное расстояние в центральной и периферийной зонах, время неподвижности, средняя скорость, максимальная скорость и др. Следует отметить, что чаще всего программы не могут анализировать такой показатель как «обследование отверстий», и в данном случае необходимо использовать ручную регистрацию видеоматериала. В нашей лаборатории мы успешно применяем компьютерную программу EthoVision® XT Noldus Inc., а для регистрации сложных этологических показателей используем программы ручной обработки видеоматериала Real-Timer (ООО «НПК Открытая Наука», Россия).

При тестировании грызунов в ОП следует принимать во внимание важные аспекты, без учета которых полученные результаты могут быть сомнительными: пол животного, характер обращения с животными до и во время тестирования, количество повторений тестов, выполненных на одном животном.

Пол животного оказывает важное влияние на модуляцию поведения в ОП. Показано, что самки грызунов разных линий обычно передвигаются интенсивнее, чем самцы, и показатели поведения у них менее стабильны [25–27]. Считается, что результаты, полученные с использованием самцов, в целом, более последовательны и предсказуемы, поэтому целесообразно исследование в ОП проводить на самцах [13].

Характер обращения с животными до и во время тестирования может существенно изменять поведенческие характеристики. Описана корреляция между обращением с животными, условиями содержания и поведением в ОП [28, 29]. Необходимо иметь ввиду, что дополнительный стресс может оказывать существенное влияние на поведенческие характеристики в ОП, вызывая симптомы тревожности у грызунов [13]. Чтобы избежать этих ошибок, эксперименты необходимо проводить в звукоизоляционной комнате с постоянным световым режимом, без присутствия экспериментатора.

Еще один значимый аспект, который следует принимать во внимание при тестировании в ОП – это количество повторений тестов, выполненных на одном животном. Повторное тестирование приводит к снижению активности в ОП из-за привыкания, в результате которого снижаются такие эмоциогенные факторы как новизна и неожиданность [5, 13].

Тестирование новых соединений с предполагаемой психотропной активностью могут вызывать следующие изменения поведения в ОП: уменьшение количества пересечений линий и заглядываний в отверстия, что является показателем седативной активности; соответствующее их увеличение – показателем стимулирующего эффекта; удлинение периода нахождения в центре ОП характеризует анксиолитическое действие [14, 30], а динамика изменения исследовательских показателей – предполагаемые ноотропные [31, 32].

Установка «Темно-светлая камера» (ТСК) используется для исследования поведения грызунов в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий) и позволяет анализировать такие показатели как предпочтение темноты или света. Методика разработана для анализа развития состояния тревожности у лабораторных грызунов и изучения анксиолитической активности психотропных веществ. Первоначально ТСК была описана для тестирования мышей [33], а затем была модифицирована и адаптирована для крыс [30]. Этот тест, подобно другим, предназначенным для исследования тревожности и анксиолитической активности психотропных веществ, основан на врожденном дискомфорте грызунов к яркому свету и их естественному стремлению к исследованиям в ответ на легкие стрессовые факторы, такие как новая среда. Установка ТСК включает 2 камеры, одна из которых (примерно 2/3 общей площади аппарата) состоит из прозрачных или белых пластиковых стенок и хорошо освещена. Другая камера (примерно 1/3 общей площади) окрашена в черный цвет и не освещена. Светлая и темная камеры соединены небольшим проходом, через который животные могут свободно передвигаться [34]. Освещенность камеры зависит от задач эксперимента. При низком уровне освещения (10–240 лк) контрольные животные проводят приблизительно 60–70 % своего времени в светлой камере и 30 % – в темной. При 400 лк время, проведенное животным в светлой части, укорачивается с соответствующим увеличением его пребывания в темном отсеке [15]. Длительность тестирования каждого животного равна 5 мин. Животное помещают на середину светлого отсека, носом к отверстию в темный отсек. Считается, что грызун вошел в другой отсек, если он там размещается всеми четырьмя лапами [35]. Во время эксперимента регистрируют время, проведенное в светлом отсеке, количество переходов из одного отсека в другой [15, 36–38], латентный период захода в темный отсек и время, проведенное в нем [5, 39]. Можно оценивать вертикальную и горизонтальную двигательную активность в светлом отсеке камеры при условии использования видеотрекинга. Для анализа поведения также используют компьютерные программы, аналогично таковым в открытом поле.

Исследования показали, что соединения с анксиолитической активностью увеличивают количество переходов и время, проведенное в светлой зоне, тогда как вещества с анксиогенными свойствами уменьшают эти показатели [30, 35]. Увеличение латентного периода первого перехода из светлого отсека в темный может быть также результатом поведения, характерного для анксиолитиков, в результате чего животные проводят больше времени, исследуя светлую часть ТСК. Следует отметить, что вещества, влияющие на общую двигательную функцию, могут изменять выполнение тестов на тревожность, и это не будет связано с их анксиогенными или анксиолитическими свойствами. Таким образом, до тестирования нового соединения в ТСК необходимо провести изучение и анализ его влияния на двигательную активность грызунов для исключения неспецифического двигательного эффекта, способного затруднить интерпретацию результатов тестов на тревожность [30].

Таким образом, тестирование в ТСК может быть полезным для прогнозирования анксиолитической или анксиогенной активности у потенциальных лекарственных средств у мышей и крыс. Преимущества этого теста заключаются в том, что он быстрый и простой в использовании, не требует предварительного обучения животных, а также лишения их пищи или воды.

Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) – один из широко используемых методов определения тревожности у грызунов – впервые был описан в 1955 году Montgomery [40]. В отличие от других поведенческих тестов, используемых для оценки тревожных реакций, связанных с представлением агрессивных раздражителей (например, электрошок, лишение пищи/воды, громкие звуки, воздействие запаха хищника и т. д.), обычно вызывающих условную реакцию, тест ПКЛ основан на склонности грызунов к темноте и замкнутому пространству, неприязни к свету, безусловному страху высоты и открытых пространств. Этот тест является логичным дополнением к тестам ОП и ТСК. ПКЛ представляет установку с четырьмя перпендикулярно расположенными «рукавами»: два закрытых и два открытых. Закрытые «рукава» являются аналогом норы, а открытые – потенциально опасной областью. Пол «рукавов» разлинован на квадраты для определения двигательной активности. Каждое животное тестируют в течение 5 мин, поскольку исследованиями было показано, что наиболее устойчивые реакции избегания после помещения в открытые «рукава» проявляются у грызунов именно в этот промежуток времени [14, 40–43]. В начале эксперимента животное помещают в центр лабиринта, носом к открытому «рукаву» [42, 44]. Фиксируют следующие показатели: двигательную активность (вертикальную по количеству стоек и горизонтальную по количеству пересеченных квадратов во всех рукавах, включая центральную зону); время пребывания в закрытых и открытых «рукавах», количество заходов в открытые и закрытые «рукава» и выходов из них. Кроме того, регистрируют длительность нахождения в центральной зоне и время выхода из нее. Дополнительно можно проводить анализ следующих показателей: отношение числа заходов в открытые «рукава» к общему числу заходов; отношение времени нахождения в открытых «рукавах» к суммарному времени тестирования. Эти показатели могут быть особенно информативны, если в ходе эксперимента есть различия между группами по общей двигательной активности в ПКЛ [45]. В данной работе авторы предлагают также дополнительно фиксировать и количество поз с растяжкой (когда грызун неподвижен, но его тело вытянуто вперед).

Непосредственно перед началом эксперимента в лабиринт посещают животное «нулевой» группы и позволяют ему в течение 5 минут изучить установку, что необходимо для уравнивания условий тестирования (по запаховым меткам) между первым и последующими грызунами, оказавшимися в условиях лабиринта. В «нулевой» группе может быть не одно, а два животных, которых помещают в лабиринт последовательно (каждого – на 5 минут). После «нулевого» животного лабиринт протирают или моют стандартным методом (тем, который будет использоваться во время эксперимента). Для повышения точности результатов исследования рекомендуется использовать систему видеотрекинга, т. е. сначала делать видеосъемку эксперимента, а затем анализировать видеозапись с использованием компьютерной программы. При проведении экспериментов в ПКЛ следует учитывать ряд определенных условий, необходимых для получения достоверных результатов. Как и при других поведенческих методиках, все животные перед тестированием должны находиться в одинаковых условиях и проходить процедуру адаптации после их помещения в лабораторию. Имеет значение и время суток, так как на поведение крыс и мышей могут влиять циркадные ритмы и световой цикл [46, 47]. Эксперименты следует проводить в одно и то же время, тогда в организме животных поддерживаются относительно постоянные значения эндогенных концентраций кортикостерона, эстрогенов, прогестинов и андрогенов, оказывающих влияние на поведенческие характеристики в ПКЛ. В нашей лаборатории тестирование в ПКЛ проводится в одно и то же время между 11:00 и 16:00 в специальной комнате без доступа естественного света. На показатели поведения грызунов в приподнятом крестообразном лабиринте может влиять его освещение, которое следует обязательно учитывать при планировании экспериментов. В подавляющем большинстве публикаций показатели освещенности не указываются, но отмечается, что свет должен быть ярким и все участки установки, особенно открытые и закрытые «рукава», должны быть освещены одинаково [42]. Еще один важный вопрос, возникающий у исследователей – возможное количество тестирований одних и тех же животных в ПКЛ. По мнению большинства авторов, грызунов, уже участвовавших в эксперименте, мож-

но повторно тестировать на этой установке не ранее, чем через 28 суток, причем эксперимент следует проводить в другом помещении, иначе поведенческая активность в открытых «рукавах» лабиринта будет ниже, чем при первом тестировании [48, 49, 50]. При изучении влияния повторного тестирования на показатели поведения в ПКЛ было показано, что у грызунов не изменяется при повторных испытаниях такой показатель, как общее пройденное расстояние [45]. Имеются также сведения, что, хотя показатели избегания грызунами открытых «рукавов» снижаются при повторных испытаниях, дискомфорт к ним все равно остается даже при многократном тестировании [51]. Мы придерживаемся мнения, что повторное тестирование одних и тех же животных в ПКЛ следует проводить не ранее, чем через 3–4 недели после предыдущего и лишь при необходимости, поскольку исчезает фактор внезапности.

Часто возникает необходимость в последовательном тестировании одних и тех же групп животных на нескольких поведенческих установках, например при моделировании патологических состояний (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, аутизм и др.), в опытах на трансгенных животных, в процессе хронического введения препаратов. В таких случаях мы соблюдаем временные интервалы между экспериментами не менее 5–7 дней [52, 53]. Об аналогичных режимах также сообщается другими авторами [54]. Некоторые исследователи совсем не делают перерывов при тестировании одних и тех же групп животных на разных установках [51].

В настоящее время ПКЛ дает большие возможности для проведения поведенческих исследований. Примером является изучение потенциальных лекарственных препаратов с анксиолитической или анксиогенной активностью [32, 44, 48], изучение уровня тревожности при моделировании на грызунах различных психопатологических состояний, исследования на трансгенных животных [32, 53, 55]. Анализ результатов экспериментов показывает, что контрольные животные избегают выходить в открытые рукава или находятся там короткое время. Применение анксиолитиков способствует более длительному нахождению животных в открытых «рукавах», тогда как анксиогенные агенты, напротив, уменьшают этот показатель и удлиняют время пребывания в закрытых «рукавах» [54].

Перед началом проведения экспериментов на ПКЛ необходимо сначала осуществить валидизацию метода, откалибровав условия тестирования в конкретной лаборатории. С этой целью в лабораториях используют разные подходы. Наиболее оптимальным, на наш взгляд, является применение в качестве положительного контроля анксиолитика [54], при этом важно учитывать дозу, введение которой не должно вызывать выраженного угнетения двигательной активности. Мы применяем в качестве положительного контроля феназепам 0,25 мг/кг в/б в соответствии с рекомендациями www.openscience.ru.

Компоненты многофакторного поведения при состоянии тревоги невозможно уловить с использованием только одного конкретного теста, поэтому для анализа тревожного поведения необходимо использовать комплексный подход с применением методов, дополняющих друг друга.

Тест «Последовательность лучей» (ПЛ) – относительно новая разновидность ПКЛ, стандартного и общепризнанного метода исследования тревожного поведения (см. предыдущий раздел). Почему же возникла необходимость создания прототипа ПКЛ и в чем заключается отличия между этими двумя тестами?

Одной из проблем при тестировании грызунов в ПКЛ является наличие в нем так называемой центральной зоны, находящейся на пересечении открытого и закрытого «рукавов» лабиринта. Однозначным показателем тревожности считается увеличение процента времени пребывания животного в закрытых «рукавах» и, соответственно его уменьшение в открытых. Время же нахождения животного в центральной зоне интерпретировать сложнее и несмотря на то, что оно классифицируется как «принятие решений», с точки зрения тревожного поведения этот показатель является неоднозначным [56]. Установка ПЛ исключает наличие центральной зоны и состоит из серии четырех последовательных аллей с нарастающими анксиогенными свойствами. Цвет аллей меняется с черного (аллея 1) через серый (аллея 2) на белый (аллеи 3 и 4). Эта модификация разработана на основе наблюдений, согласно которым мыши предпочитают более темные области, что подтверждается тестом ТСК. Стенки аллей в ПЛ постепенно уменьшаются по высоте, в отличие от ПКЛ, где есть резкий переход между высокими стенками (закрытые рукава) и их отсутствием (открытые «рукава»). Ширина аллей, подобно высоте стенок, также уменьшается постепенно. Эти факторы способны повысить чувствительность теста и охватить более широкий диапазон тревожно-подобного поведения [56, 57]. Тестирование начинают с помещения грызуна, не участвующего в эксперименте, на несколько минут на установку, чтобы обеспечить легкий равномерный фоновый запах животного. Затем установку необходимо очистить, как и во время всего эксперимента. Протокол исследования подробно прописан в работе [56]. Тестирование осуществляется в течение 5 мин. Регистрируют латентный период захода в каждую аллею (всеми четырьмя лапами); время, проведенное в аллее 1; общее время, проведенное в каждой аллее; количество входов (как вперед, так и назад); количество болюсов и мочеиспусканий.

Признаки тревожного поведения животных в ПЛ: увеличение процента времени нахождения в аллее 1 (черного цвета), увеличение латентного периода и количество входов в аллеи 2–4. Применение анксиолитиков уменьшает время, проведенное в аллее 1 и количество входов в аллеи 2–4 [58, 59].

Исследования показывают, что иногда, в зависимости от причины развития тревожности, результаты тестирования животных в ПЛ и ПКЛ у грызунов заметно различаются [56, 59]. Таким образом, использование и ПКЛ, и ПЛ может исключить ложноположительные или ложноотрицательные результаты, поскольку эти два теста, хотя и похожи по направленности, функционально не идентичны друг другу.

Поведенческие методы для исследования процессов памяти и обучения

Использование поведенческих методов для изучения когнитивных и мнестических функций у грызунов занимает важное место в поведенческой фармакологии. Моделирование различных психопатологических состояний у лабораторных животных с последующей коррекцией когнитивных изменений служит одним из важнейших подходов в разработке лекарственных препаратов для лечения психических заболеваний, при которых нарушаются процессы памяти и способность к обучению. Эти методы также необходимы для изучения препаратов с ноотропной активностью.

Существует большое количество поведенческих методов по изучению когнитивных и мнестических функций у грызунов и подробное их описание в данном обзоре нецелесообразно, так как опубликованы десятки экспериментальных протоколов с модификациями методов в зависимости от поставленных целей и задач. В данном обзоре сделана попытка изложить общие представления об этих методах, общие принципы работы и направления их применения для конкретных исследований.

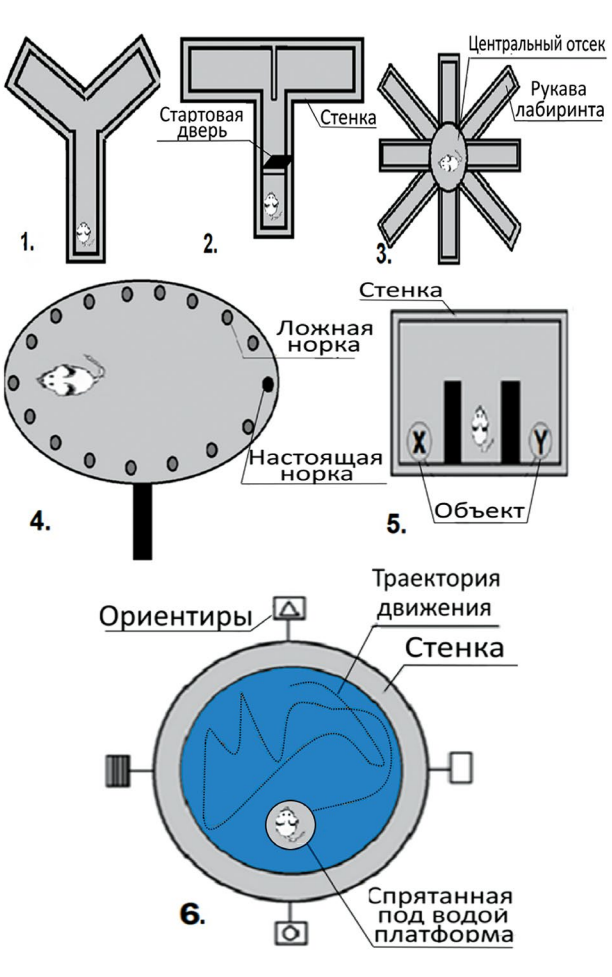
Методы для изучения процессов памяти и когнитивных функций можно разделить на две группы: с положительным подкреплением, когда животное получает вознаграждение (еда, вода, укрытие и др.) за правильно выполненную реакцию, и с отрицательным подкреплением, когда животное получает наказание (например, удар током) за неправильно выполненную реакцию.

Тесты с положительным подкреплением основаны на этологических подходах и позволяют изучать пространственную память грызунов, в формировании который принимает участие гиппокамп [60–62]. Пространственная память у грызунов обеспечивает запись информации об их среде и пространственной ориентации. Именно она позволяет грызунам перемещаться через различные типы лабиринтов, помня правильные и неправильные пути. Нарушение пространственной памяти может привести к потере ориентиров в лабиринте, причем, независимо от того, насколько успешными были предыдущие попытки. Для изучения этого вида памяти существует большое количество методов с использованием разнообразных лабиринтов. Лабиринты могут иметь разную форму, в зависимости от сложности которой, могут использоваться как при исследовании условно-рефлекторной деятельности, так и для оценки когнитивных процессов животных. Перед подопытным животным, помещенным в лабиринт, ставится задача нахождения пути к определенной цели, чаще всего пищевой приманке. В некоторых случаях целью может служить убежище или другие благоприятные условия. В исследовательских целях применяются установки Т-образный, У-образный, радиальный лабиринт, лабиринт Барнс, Е-лабиринт, а также водные лабиринты (Морриса, Т-лабиринт) (рисунок 2).

Одним из самых простых лабиринтов является Т-лабиринт, представляющий собой приподнятый или закрытый с боков горизонтальный Т-образный аппарат со стартовым (основание) и боковыми рукавами в модификациях для крыс и мышей. Метод подробно описан в работах [63, 64], а порядок тестирования в нем и его модификации представлены в протоколах экспериментальных исследований [65].

Основа тестирования заключается в том, что животное помещается в основание лабиринта и после адаптации в течение 5 мин, выбирает один из двух рукавов. Если предлагать ему лабиринт два раза подряд, на второй попытке оно выбирает другой рукав, что свидетельствует об его готовности исследовать новые раздражители окружающей среды. Этот тип исследовательского поведения, характерного для грызунов, называется «спонтанное чередование» [66, 67, 62]. Рефлекс исследования новой среды усиливается, если второй выбор подкрепляется пищей (приманкой), помещаемой в один из рукавов. В этом случае тестирование осуществляется с пищевым подкреплением, и до начала эксперимента грызун не должен получать пищи в течение 48 ч. Необходимо обратить внимание, что при тестировании с пищевым подкреплением следует подбирать пищу, которую животное будет есть с удовольствием. В наших экспериментах, несмотря на пищевую депривацию в 48 ч, грызуны были привередливы и не соблазнялись даже сыром и семечками. Мы использовали в этом случае картофельные чипсы.

Тестирование повторяют 10 раз, с интервалом 3 мин в зависимости от задачи. Регистрируются количество правильных входов в рукава с приманкой, возвращений из рукавов без приманки, повторные посещения неправильного рукава. В качестве критерия выработки рефлекса обычно считается 7–8 правильных побежек из 10. У контрольных животных ошибки памяти обычно составляют меньше 15 %. Варьируя длительность интервала, можно оценивать объем пространственной рабочей памяти. Как спонтанный, так и награждаемый выборы очень чувствительны к дисфункции гиппокампа [60–62]. Учитывая, что при развитии болезни Альцгеймера у человека нарушения процессов памяти обусловлены именно поражением гиппокампа, Т-образный лабиринт широко используется при тестировании трансгенных мышей с болезнью Альцгеймера [53, 68–70] и других поражениях гиппокампа. Он также применяется как тест система при моделировании аутизма (в этом случае отмечают стереотипность поведения, т. е., захо-



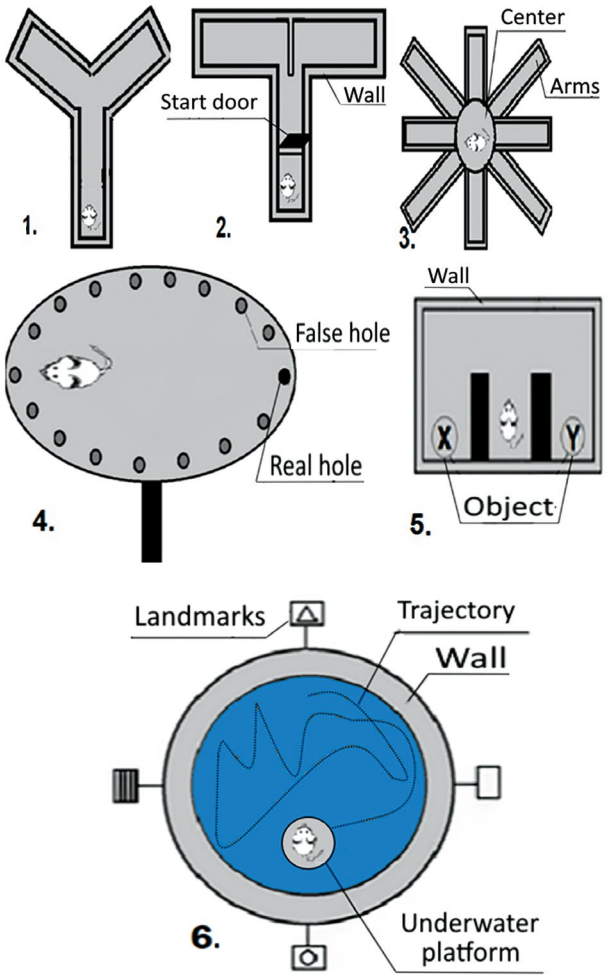


Рисунок 2. Поведенческие методы для исследования когнитивных функций.

1 – тест Y-лабиринт; 2 – тест Т-лабиринт; 3 – радиальный лабиринт; 4 – лабиринт Барнес; 5 – Е-лабиринт; 6 – водный лабиринт Морриса

Figure 2. Behavioral methods for the study of cognitive functions.

1 – test Y-maze; 2 – test T-maze; 3 – radial maze; 4 – Barnes maze; 5 – E-labyrinth; 6 – Morris water maze

ды животного в один и тот же рукав) [71, 72], а также при разработке препаратов с ноотропными свойствами [32, 73, 74].

Y-лабиринт практически является аналогом Т-лабиринта, отличия заключаются только в том, что основание этого лабиринта переходит в рукава более плавно, чем в Т-образном и длина всех рукавов одинакова. Считается, что животное в этом лабиринте адаптируется быстрее, чем в Т-образном. Эта установка позволяет так же, как и в Т-образном, исследовать пространственную и рабочую память грызунов, лежащую в основе выбора ими рукавов (спонтанного или подкрепленного пищей) и чувствительную к дисфункции септо-гиппокампальной системы. Метод описан в работе [75] с применением этого метода можно ознакомиться в работах [76, 77].

Радиальный лабиринт предназначен для изучения рабочей и референтной пространственной памяти у лабораторных животных. В радиальном лабиринте перед тестируемым животным стоит задача выбора оптимальной стратегии исследования и нахождения. Установка представляет собой шести-, восьми- или двенадцатилучевой лабиринт (количество рукавов может варьировать) с центральной площадкой, оснащенной свободно открывающимися гильотинными дверцами [78]. Существуют модификации для крыс и мышей, различающиеся длиной рукавов. В конце каждого рукава установлена кормушка для пищевого подкрепления. Удобство конструкции состоит в том, что ее легко модифицировать в зависимости от установленного протокола исследования. За 48 ч до эксперимента животное подвергают пищевой депривации. Установлено, что время обучения связано с ее длительностью. При недостаточной депривации животное хуже обучается. Существует различное количество экспериментальных протоколов, используемых для проведения данного теста. Один из вариантов заключается в том, что в конец каждого рукава помещается пища, и грызуна тренируют до тех пор, пока он не найдет все кусочки пищи. После несколь-

ких тренировочных заходов животные заходят только в те рукава, где есть подкрепление и игнорируют рукава без еды. В течение обучения у грызуна формируется пространственное представление об этом лабиринте. После процедуры обучения голодное животное сажают в центральную часть установки, откуда оно начинает заходить в рукава лабиринта в поисках еды. При повторном заходе в один и тот же рукав животное пищи там не находит, и такой вариант поведения рассматривается как ошибочный, что позволяет оценивать рабочую и референтную память [79].

Лабиринт Барнс с момента изобретения [80] обеспечил простой подход к экспериментальной оценке пространственной памяти у мелких грызунов. Преимущество метода: он в меньшей степени вызывает стресс у животных по сравнению с другими лабиринтами [81, 82]. В данном лабиринте также исследуются процессы памяти и обучения на основе пространственной навигации [78, 81, 83]. Установка имеется в модификации для крыс и мышей и состоит из платформы с двадцатью отверстиями диаметром 5 см, расположенными по ее краю. Только одно из отверстий пригодно для того, чтобы там спрятаться (норка), остальные являются ложными. Установка приподнята над полом на 105 сантиметров. В качестве раздражающего стимула используют яркий свет, сильный шум, вентилятор или непосредственный дискомфорт грызунов к открытому пространству как мотивацию для поиска укрытия [80, 84, 85]. Контрольные животные, как правило, относительно быстро находят спасательную норку, не пытаясь сбежать через ложные отверстия. Грызуны с нарушением пространственной памяти будут каждый раз спонтанно и случайно исследовать все отверстия. В качестве дополнительной мотивации можно положить в норку пищу. Для лучшей ориентации в пространстве возможно применение специальных ориентиров [82, 86]. Согласно экспериментам в нашей лаборатории, применение ориентиров (квадраты, треугольники и др.) способствует более высокой эффективности обучения.

Лабиринт Барнс используется для тестирования грызунов с моделями нарушенной памяти, трансгенных животных с болезнью Альцгеймера, а также с целью разработки препаратов, улучшающих когнитивные функции [82, 84, 87].

Е-лабиринт. С помощью Е-лабиринта можно решить несколько иные задачи по сравнению с предыдущими типами лабиринтов. Е-лабиринт предназначен для оценки контекстной памяти у грызунов и применяется в качестве модели эпизодической памяти человека, за которую отвечает гиппокамп [88, 89]. Лабиринт по форме напоминает заглавную букву Е, за что и получил свое название. Коридор соединяет три отсека, центральный (стартовый) и тестовые отсеки по одному справа и слева от него. Эксперименты проводят на крысах. Порядок и задачи тестирования памяти в Е-лабиринте подробно представлены в работе исследователей [90], попытавшихся создать одну из моделей эпизодической памяти человека, являющейся сознательным воспоминанием о прошлом событии. Модель позволяет оценить, «что», «где», либо «когда» это произошло, либо в «каком» контексте это произошло [91]. Подробнее ознакомиться с этим методом можно на сайте http://www.openscience.ru.

При проведении исследований на разных типах лабиринтов необходимо учитывать все требования к экспериментальных животным и порядок обращения с ними, аналогично таковым при исследовании на тревожность и прописанных в протоколах исследований. Необходимо учитывать, что при выполнении поведенческих тестов важное значение имеет фактор наличия запаха предыдущего животного в лабиринте, поэтому необходимо обрабатывать поверхности после каждого тестируемого грызуна. В то же время, аналогично предыдущим экспериментам, нужно помнить об эффекте абсолютной новизны, поэтому до тестирования необходимо использовать «нулевое» животное, которое не должно впоследствии участвовать в эксперименте.

Следует обратить внимание на необходимость фиксации всех тестов с использованием системы видеотрекинга и последующим анализом с использованием компьютерных программ EthoVision® XT Noldus Inc. (США), ANY-maze, Stoelting CO (США) и др., что позволяет более точно и объективно фиксировать, и оценивать все изменения в поведении.

Представленные выше установки лаабиринтов могут быть в виде водных аналогов, например, водный вариант Т-лабиринта, Е-лабиринта и др., позволяющих избежать обонятельных меток животных и сочетающих в себе преимущества сухого и водного тестов. Из водных тестов на сегодняшний день одним из наиболее широко используемых для исследования когнитивных функций служит водный лабиринт Морриса.

Водный лабиринт Морриса. Тест Морриса, известный также как водный лабиринт Морриса применяется, как и предыдущие, для исследования пространственной памяти у животных. Метод основан на том, что животное ищет кратчайший путь в бассейне с водой до спрятанной там спасательной платформы на основании предыдущих знаний в процессе обучения об ее местонахождении [92]. Ниже мы приводим один из вариантов этой методики с описанием типичной установки.

Лабиринт Морриса представляет собой круглый бассейн, заполненный водой [93]. Диаметр бассейна варьирует от 1 до 2 м, глубина – от 0,3 до 0,6 м, в зависимости от вида тестируемого животного. В центре одного из секторов бассейна на глубине 1,5–2 см под водой располагается скрытая платформа размером 10 × 10 см, которая в процессе обучения животных должна находиться на одном и том же месте. Воду перед началом эксперимента подкрашивают обезжиренным молочным порошком или нетоксичным

красителем, чтобы животное не видело сквозь воду установленную платформу. Во время эксперимента, как и во всех водных тестах, необходимо поддерживать постоянную температуру воды (+25…+28 °C), так как температурные перепады могут искажать достоверность полученных результатов. Для ориентации в бассейне необходим набор так называемых зрительных ориентиров, устанавливаемых вокруг бассейна [92, 93]. Эксперимент состоит из нескольких этапов в зависимости от протокола исследования. На первом этапе животное обучают около 3–5 дней. Крыс опускают в воду мордочкой к бортику в одной из четырех стартовых точек на периметре бассейна, выбранных таким образом, чтобы расстояние от них до платформы было приблизительно равным. Животному дают 3 мин на самостоятельный поиск платформы. Если в течение этого времени крыса не находит платформу, ей следует ее показать. Крысе дают посидеть на платформе в течение примерно 30 с, после чего перемещают в клетку для просушки. Каждый день очередность старта каждой крысы определяется псевдослучайно. На следующий день после окончания этапа обучения проверяют пространственную память. Для этого платформу убирают, животное несколько раз помещают в определенную точку бассейна в центре или возле стенки рядом с одним из ориентиров (эта точка должна быть постоянной для каждого животного) и в течение минуты наблюдают за его движением. Правильно обученное животное относительно быстро доплывет и будет плавать в том секторе, где находилась платформа, а при нарушениях процессов памяти будет случайно исследовать все сектора бассейна в поисках платформы.

В этом тесте обязательно наличие системы видеотрекинга с компьютерной программой, ручной вариант регистрации в данном случае не корректен. Основные параметры для регистрации: время, за которое обученная крыса доплывет до сектора, где находилась платформа, длительность нахождения в этом секторе, пройденное расстояние, скорость. Возможные дополнительные параметры: прыжки, длительность замираний на одном месте и др. Например, некоторые авторы предлагают также оценивать траектории движения животных в лабиринте [94–96]. Считается, что этот тест дает большое количество возможностей, и экспериментатор может выбирать показатели, имеющие, на его взгляд, важное значение в конкретном эксперименте.

В отличие от сухих лабиринтов, водный лабиринт Морриса, требует серьезной подготовки перед запуском, начиная от системы забора, слива воды и поддержания ее нормальной температуры, до освещения и видеорегистрации показателей при тестировании. Здесь хотелось бы обратить внимание на проблемы режима освещения и видеорегистрации, с которыми мы столкнулись в нашей лаборатории. Лампы освещения в лаборатории иногда располагаются так, что свет мешает компьютерной программе регистрировать движения животного, выдавая блики в воде от света за видимые помехи. Для избегания этого отрицательного фактора мы поместили под дном бассейна лампы инфракрасного излучения, все процедуры проводили при выключенном свете. В этом случае получалась картинка всех движений животного с четкими треками, нарисованными программой.

Метод Морриса незаменим в области психофармакологии и позволяет изучать и анализировать влияние препаратов с психотропной активностью на процессы памяти, обучения и когнитивные функции, как у нормальных животных, так и у грызунов с моделями психопатологических состояний. Водный лабиринт Морриса широко используется как тест система при моделировании болезни Альцгеймера, аутизма [97, 98], других нарушений процессов памяти и обучения [99–104].

Методы изучения социального поведения

Социальное поведение – поведение, требующее для своей реализации взаимодействия с другими представителями своего вида и включающее все виды социального взаимодействия (социальное познание, социальное предпочтение, межполовое и родительское поведение и др.). Социальное поведение может нарушаться при многих психических расстройствах и патологических состояниях, например при шизофрении, депрессии, болезни Альцгеймера, аутизме. Моделирование нарушений социального поведения и исследование подходов для его коррекции является важным направлением в области поведенческой фармакологии.

Для изучения социального поведения лабораторных животных существует значительное количество тестов, позволяющих анализировать нарушения социального взаимодействия, социального подхода и избегания, социальной тревожности и др. В данном обзоре мы рассмотрим некоторые методы, являющиеся, с одной стороны, наиболее востребованными, а с другой – не требующие сложного оборудования и отличающиеся простотой воспроизведения (рисунок 3).

Трехкамерный социальный тест [72, 105] считается общепринятым методом оценки социального поведения у крыс. Метод основан на том, что животные, как правило, предпочитают проводить больше времени с другими особями (общительность) и проявляют больший интерес к новому объекту, чем к знакомому (социальная новизна). Тест позволяет выявить грызунов с дефицитом общительности и социальной новизны. Установка представляет собой камеру (60 × 40 см) с тремя отсеками. Размер центрального отсека равен 20 × 60 см, боковых – 19,5 × 40 см. Боковые отсеки содержат два сетчатых ограждения для новых объектов. Тестирование состоит из последовательных трех 10-минутных сессий. Во время первой сессии исследуемое животное помещают в центр установки для адаптации, после чего убирают на время обработки камер, которую следует

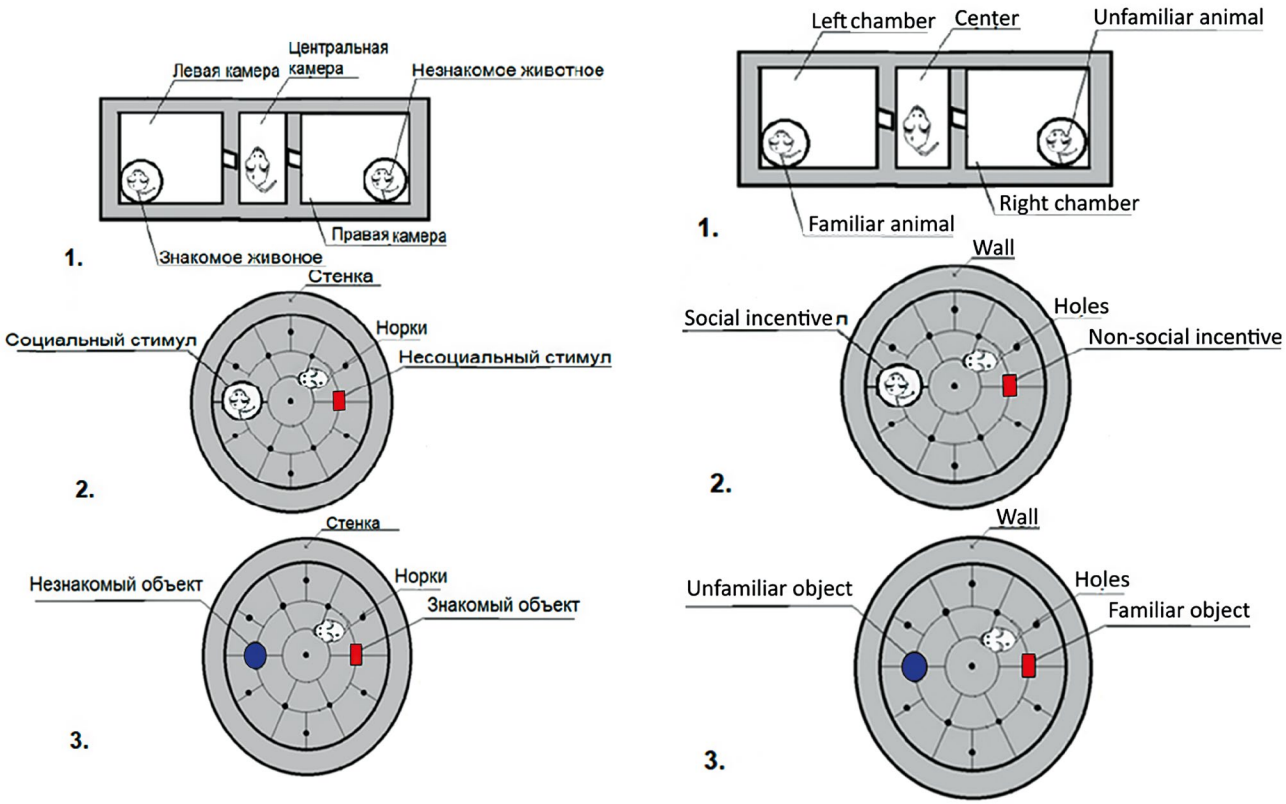


Рисунок 3. Поведенческие методы для исследования социального поведения.

1 – метод «Социальное взаимодействие»; 2 – тест «Открытое поле» расширенный; 3 – тест «Распознавание объекта»

Figure 3. Behavioral methods for the study of social behavior.

1 – method "Social interaction"; 2 – extended open field test; 3 – test "Object recognition"

проводить тщательно между испытаниями. Затем в один из боковых отсеков помещают «стимул» (незнакомую для исследуемой крысы особь того же пола), а в центральный высаживают исследуемое животное. С этого момента начинается вторая сессия, в ходе которой «стимул» становится знакомым животным. По окончании второй сессии испытуемую крысу вновь отсаживают, камеру обрабатывают, затем в противоположный боковой отсек помещают новый «стимул», а в центральный – тестируемое животное, то есть в третьей сессии оно находится в камере со знакомым грызуном и незнакомым. Во второй и третьей сессии необходимо осуществлять видеорегистрацию поведения. Стоит отметить, что «стимулы» следует помещать в камеру в закрытых пластиковых контейнерах с отверстиями, не позволяющими проявлять агрессию к исследуемому животному, но стимулирующие социальный интерес. Регистрируют время, проведенное крысой со знакомым и незнакомым животным, количество входов в отсеки, что отражает уровень интереса к объекту. Незнакомых животных берут из разных клеток, до тестирования они не находились в физическом контакте с объектом исследования. При нарушении социального поведения сокращается время контакта с незнакомым животным и, соответственно, увеличивается длительность контакта со знакомым.

Трехкамерный социальный тест считается приоритетным при исследовании социального поведения животных на моделях аутизма [71, 101, 106–108], также применяется при оценке изменений поведения, например, после стресса [109]. Использование этого теста возможно и на других моделях психопатологических состояний, например, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона с последующей коррекцией этих нарушений изучаемыми лекарственными препаратами.

Тест «Открытое поле» расширенный применяется для оценки интереса к новому неодушевленному (несоциальному) и социальному объектам [72, 110]. Тестирование состоит из последовательных трех 10-минутных сессий. Крыса делает предпочтения между социальным и несоциальным объектами. В первой сессии испытуемое животное помещают на арену на 10 мин для адаптации (исследование нового пространства, привыкание к полю перед второй сессией). В второй сессии (интерес к новому неодушевленному предмету) в центре поля располагают новый для животного неодушевленный объект (металлическую клетку или иной неодушевленный предмет) и вновь помещают животное на 10 мин. В третьей сес-

сии (интерес к новому социальному объекту) в центр арены помещают незнакомую особь того же пола и веса, что и исследуемое животное, заключенную в металлическую клетку, и вновь помещают животное на 10 мин. Перерыв между сессиями 3–10 мин в зависимости от поставленных задач. В каждой из трех сессий оценивают время, проведенное животным в центре и на периферии, число входов в зоны, количество вертикальных стоек.

Тест распознавания нового объекта. В этом тесте, отличие от предыдущего, оба объекта являются несоциальными, поэтому его нельзя назвать социальным, но он характеризует предпочтение новизны, которое изменяется при нарушении социального поведения. Тест состоит из трех сессий. В первую сессию крысу помещают в установку на 10 мин (сеанс привыкания). После привыкания животное убирают, а на арену выставляют два одинаковых неодушевленных предмета (объемные фигуры определенного цвета). Во вторую сессию крысу возвращают в установку к несоциальным объектам и в течение следующих 10 мин регистрируют ее поведение. Затем один из объектов меняют на другой новый, другого цвета и другой формы. Тестируемое животное вновь запускают в установку на 10 мин (третья сессия). Регистрируют время изучения животным каждого из несоциальных объектов, нового (незнакомого) и старого (знакомого). Средний временной интервал между сессиями составляет в среднем 2–3 мин.

При выполнении перечисленных двух тестов необходима видеорегистрация, позволяющая более точную оценку малейших изменений в поведении животных.

Тесты распознавания нового объекта и «Открытое поле» расширенный также могут быть применены при моделировании расстройств аутистического спектра и других психопатологических состояний у крыс и мышей.

Следует подчеркнуть, что при изучении социального поведения необходимо использование нескольких тестов, характеризующих разные типы взаимодействий. Кроме того, следует учитывать, что на инициацию и интенсивность социальных взаимодействий оказывает влияние уровень тревожности: чем выше тревожность, тем более выраженными будут нарушения социального поведения. Поэтому важным дополнением будет исследование показателей тревожности, которые обычно осуществляются в приподнятом крестообразном лабиринте.

Тест «Закапывание шариков» [111, 112] не совсем относится к социальным, но служит простым и информативным методом оценки обсессивно-компульсивного расстройства грызунов, связанного с навязчивыми идеями и действиями. Процесс закапывания – это обычная поведенческая привычка у грызунов, однако аберрантное закапывание может представлять собой неофобное (боязнь новых или странных предметов) [65] и компульсивное (чрезмерное выполнение каких-то действий) поведение [113]. Тест основан на том, что грызуны используют подстилку в клетке, чтобы закопать источники дискомфорта в своем окружении. В качестве источника дискомфорта обычно используют стеклянные шарики диаметром 1 см, которые в количестве 20 штук плотно укладывают на слой подстилки толщиной 3 см в случайном порядке. Животное помещают на 30 минут в подготовленную клетку с шариками, затем аккуратно извлекают и подсчитывают количество шариков, закопанных более чем на 2/3, что отражает уровень стереотипного поведения животного, т. е., чем больше их закопано по сравнению с контрольными животными, тем сильнее выражена стереотипность. Для выполнения эксперимента мы не переносим животных в лабораторию, а тестируем их непосредственно в виварии, в привычной для них обстановке.

Тест нашел широкое применение для изучения выраженности стереотипного поведения грызунов при моделировании аутизма [72, 111–115], как модель обсессивно-компульсивного расстройства и разработки его лекарственной коррекции [116].

Поведенческие методы в комплексе с фармакологическими анализаторами

В заключение необходимо остановиться на поведенческих методиках, которые проводятся с использованием известных фармакологических анализаторов. Классической моделью является каталепсия [117, 118]. Каталепсия – это способность животного удерживать приданную ему позу и является одним из проявлений побочных эффектов нейролептиков. Чаще всего состояние каталепсии модулируют с использованием галоперидола и трифтазина.

Галоперидол является типичным нейролептиком – производным бутирофенона. Действие его наступает быстро и продолжается длительное время. Наиболее частым побочным эффектом галоперидола являются экстрапирамидные расстройства. Чаще всего каталепсию вызывают внутрибрюшинным введением галоперидола крысам в дозе 1 мг/кг.

Для изучения каталептогенного действия применяют широкий спектр тестов, позволяющих оценить способность животного сохранять неестественную для них позу [117]. Наиболее часто используют положение в виде «позы лектора», где передние лапы животного помещают на горизонтальную перекладину на высоте 10 см и регистрируют время сохранения этой неестественной позы в течение 60 или 120 сек. на 30, 60, 120 и 180 мин наблюдений [118].

В другом варианте, по Morpurgo [119], регистрируется удержание лап на ступеньках высотой 3 см и 10 см (тест «лестница») и удержание животного на параллельных стенках. В тесте «лестница» оценивается способность крысы в течение 10 сек. не возвращать в исходное положение лапу, поднятую на ступеньку. Глубина каталепсии оценивается по 6-балльной системе:

1) только одна из передних лап остается на нижней ступеньке;
2) последовательно обе лапы остаются на нижней ступеньке;
3) только одна из передних лап остается на верхней ступеньке;
4) последовательно обе лапы остаются на верхней ступеньке.

Изменение степени каталептогенного действия галоперидола может быть использовано при изучении потенциальных антидепрессантов, средств для лечения болезни Паркинсона. В этом случае, обладая необходимой эффективностью, исследуемые соединения должны уменьшать выраженность каталептогенного действия галоперидола.

В последнее время галоперидол привлекает внимание как инструмент для изучения систем доставки лекарств в организме, а его каталепогенное действие является удобной и прогностически значимой моделью для разработки и тестирования носителей для интраназальной доставки потенциальных лекарственных средств в мозг [120]. Нами было показано, то интраназальное введение субстанции галоперидола развивается почти на уровне внутрибрюшинного и применение его в комплексе с микро- или наноструктурированными носителями может замедлять или ускорять развитие каталепсии, изменять ее длительность и интенсивность при анализе на разных сроках наблюдения [121].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные исследования с применением поведенческих методов – сложный процесс, требующий тщательной подготовки экспериментов и соблюдения ряда требований. Прежде всего, соответствие исследований этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных в рамках Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и Методическим рекомендациям по содержанию лабораторных животных в виварииях научно-исследовательских институтов и учебных заведений РД-АПК 3.10.07.02-09 (утв. Министерством сельского хозяйства РФ 1 декабря 2009 г.).

Для получения достоверных и информативных результатов каждое тестирование следует проводить по протоколу опыта, на сертифицированном оборудовании, с соблюдением всех условий от подготовки экспериментальных животных с учетом их генетических линий, условий содержания, температурно-светового режима в лаборатории до квалифицированной интерпретации полученных результатов. И даже в этом случае при проведении поведенческих исследований необходимы терпение, иногда их повторение и профессиональный анализ. Поведенческие методы имеют важнейшее значение при изучении потенциальных психотропных средств. Имеется широкий выбор методов и тестов в области поведенческой фармакологии, позволяющих получить информацию о фармакодинамике, эффективности, особенностях, оптимальном режиме дозирования исследуемых препаратов. Для выявления каждого вида активности необходимо одновременное использование нескольких тестов, как функционально неидентичных, так и дополняющих или подтверждающих друг друга.

Фармакология поведения диктует необходимость тесного взаимодействия доклинических и клинических этапов исследований в рамках развития трансляционной медицины и разработки подходов, доказательно подтверждающих воспроизводимость полученных результатов при клинических испытаниях.

Необходимы также усовершенствование существующих и разработка новых поведенческих моделей психических расстройств, поиск новых путей к изучению механизмов формирования нарушений поведения, в том числе с применением молекулярно-генетических подходов.

ЛИТЕРАТУРА

1. You R., Liu Y., Chang R. C. C. A behavioral test battery for the repeated assessment of motor skills, mood, and cognition in mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2019;(145):e58973. DOI: 10.3791/58973.
2. Беспалов А. Ю., Звартау Э. Э., Бирдсли П., Катц. Д. Ж. Фармакология поведения. Хрестоматия.СПб.: СПбГМУ; 2013. 466 с.
3. Hock F. J. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological assays. Berlin: Springer. 2015; 306 p. DOI: 10.1007/978-3-319-05392-9.
4. Rodgers R. J., Cao B. J., Dalvi A., Holmes A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 1997;30:289–304. DOI: 10.1590/s0100-879x1997000300002.
5. Sestakova N., Puzserova A., Kluknavsky M., Bernatova I., Determination of motor activity and anxiety related behavior in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdisciplinary Toxicology*. 2013;6(3):126–135. DOI: 10.2478/intox-2013-0020.
6. Hall C., Ballachey E. L. A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology. *University of California Publications in Psychology*. 1932;6:1–12. DOI: 10.1007/978-1-60761-303-9_1.
7. Broadhurst P. L. Psychogenetics of emotionality in the rat. *NYASA*. 1969;159(3):806–824. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1969.tb12980.x.
8. Henry B. L. Minassian A., Young J. W., Paulus M. P., Geyer M. A., Perry W. Cross–species assessments of motor and exploratory behavior related to bipolar disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2010;34(8):1296–1306. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2010.04.002.
9. Aitken P., Zheng Y., Smith P. F. Ethovision™ analysis of open field behaviour in rats following bilateral vestibular loss. *Journal of Vestibular Research*. 2017;27(2-3):89–101. DOI:10.3233/ves-170612.
10. Zamani M., Budde T., Bozorgi H. Intracerebroventricular administration of N-type calcium channel blocker ziconotide displays anticonvulsant, anxiolytic, and sedative effects in rats: A preclinical and pilot study. *Epilepsy & Behavior*. 2020;111:107251. DOI: 10.1016/j.yebeh.2020.107251.
11. Berton O. Ramos A., Chaouloff F., Mormede P. Behavioral reactivity to social and nonsocial stimulations: a multivariate analysis of six inbred rat strains. *Behavioral Genetics*. 1997;27:155–166. DOI: 10.1023/A:1025641509809.
12. Krishna S., Dodd C. A., Hekmatyar S. K., Filipov N. M. Brain deposition and neurotoxicity of manganese in adult mice exposed via the drinking water. *Archives of Toxicology*. 2014;88(1):47–64. DOI: 10.1007/s00204-013-1088-3.
13. Martin–Arenas F. J., Pintado C.O. Results of the Open Field Test at different light intensities in C57 mice. *Proceeding of Measuring Behavior*. 2014;322–326. DOI: 10.13140/RG.2.2.29920.74247.

14. Ковалев Г. И., Васильева Е. В., Салимов Р. М. Сравнение поведения мышей в тестах открытого поля, закрытого и приподнятого крестообразного лабиринтов с помощью факторного анализа. Журнал высшей нервной деятельности им И. П. Павлова. 2019;69(1):123–130. DOI: 10.1134/S0044467719010064.
15. Ramos A., Correia E. C., Izídio G. S., Brüske G. R. Genetic selection of two new rat lines displaying different levels of anxiety-related behaviors. *Behavior Genetics*. 2003;33:657–668. DOI: 10.1023/A:1026131130686.
16. Абдурасулова И. Н., Екимова И. В., Чернышев М. В., Мацулевич А. В., Пастухов Ю. Ф. Нарушение когнитивных функций у крыс Вистар в модели доклинической стадии болезни Паркинсона. *Журнал высшей нервной деятельности им И. П Павлова*. 2019;69(3):364–381. DOI: 10.1134/S0044467719030031.
17. Пашина И. П., Семина И. И., Сидуллина С. А., Тарасова Р. И., Газизов М. Б., Мустафин Р. И. Синтез и психотропная активность гидразидов арилгидроксифосфорилуксусных кислот и их солей. *Химико-фармацевтический журнал*. 2013;47(8):19–22. DOI: 10.30906/0023-1134-2013-47-8-19-22.
18. Swiergiel A. H., Dunn A. J. Effects of interleukin–1β and lipopolysaccharide on behavior of mice in the evaluated plus–maze and open field tests. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2007;86:651–659. DOI: 10.1016/j.pbb.2007.02.010.
19. Schiller G. D., Daws L. C., Overstreet D. H., Orbach J. Lack of anxiety in an animal model of depression with cholinergic supersensitivity. *Brain Research Bulletin*. 1991;26:433–435. DOI: 10.1016/0361-9230(91)90019-G.
20. Никитин Д. О., Никитина А. В., Семина И. И., Байчурина А. З., Садыкова Р. Г., Овчинникова А. Г., Крутов И. А., Габдрахманова Д. Ф., Бурангулова Р. Н., Гаврилова Е. Л. К вопросу о психотропных свойствах новых производных фосфорилацетогидразидов – солей арилфосфиновых кислот. *Современные проблемы науки и образования*. 2019;3:107–107.
21. van Erp. A. M., Kruk M. R., Meelis W., Willekens–Bramer D. C. Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self–grooming in the rat: handing, social contact, defeat, novelty, restrain and fut moistening. *Behavioural Brain Research*. 1994;65(1):47–55. DOI: 10.1016/0166-4328(94)90072-8.
22. Weiss I. C., Pryce C. R., Jonger–Relo A. L., Nanz–Bahr N. I., Feldon J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research*. 2004;152(2):279–295. DOI: 10.1016/j.bbr.2003.10.015.
23. Mach M., Grubbs R. D., Price W. A., Nagaoka M., Dubovický M., Lucot J. B. Delayed behavioral and endocrine effects of sarin and stress exposure in mice. *Journal of Applied Toxicology*. 2008;28(2):132–139. DOI: 10.1002/jat.1258.
24. Talarovičová A., Kršková L., Blažeková J. Testosterone enhancement during pregnancy influences the 2D: 4D ratio and open field motor activity of rat siblings in adulthood. *Hormones and Behavior*. 2009;55(1):235–239. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2008.10.010.
25. Ramos A., Berton O., Mormede P., Chaouloff F. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. *Behavioral Brain Research*. 1997;85(1):57–69. DOI: 10.1016/s0166-4328(96)00164-7.
26. McCormick C. M., Robarts D., Kopeikina K., Kelsey J. E. Long-lasting, sex-and age-specific effects of social stressors on corticosterone responses to restraint and on locomotor responses to psychostimulants in rats. *Hormones and Behavior*. 2005;48(1):64–74. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2005.01.008.
27. Bernatova I., Puzserova A., Dubovicky M. Sex differences in social stress-induced pressor and behavioral responses in normotensive and prehypertensive rats. *General Physiology and Biophysics*. 2010;29(4):346–354. DOI: 10.4149/gpb_2010_04_346.
28. Rasmussen S., Miller M. M., Filipski S. B., Tolwani R. J. Cage change influences serum corticosterone and anxiety-like behaviors in the mouse. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2011;50(4):479–483.
29. Pritchard L. M., Van Kempen T. A., Zimmerberg B. Behavioral effects of repeated handling differ in rats reared in social isolation and environmental enrichment. *Neuroscience Letters*. 2013;536:47–51. DOI: 10.1016/j.neulet.2012.12.048.
30. Pitsikas N., Georgiadou G., Delis F., Antoniou K. Effects of Anesthetic Ketamine on Anxiety-Like Behaviour in Rats. *Neurochemical Research*. 2019;44(4):829–838. DOI: 10.1007/s11064-018-02715-y.
31. Ковалев Г. И., Фирстова Ю. Ю., Салимов Р. М. Влияние пирацетама и ацефена на NMDA и никотиновые рецепторы мозга мышей с различной эффективностью исследовательского поведения в крестообразном лабиринте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2008;71(1):12–17. DOI: 10.30906/0869-2092-2008-71-1-12-17.
32. Воронина Т. А., Островская Р. У., Гарибова Т. Л. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России, Гриф и К; 2012. 264–275 с.
33. Crawley J., Goodwin F. K., Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1980;13(2):167–170. DOI: 10.1016/0091-3057(80)90067-2.
34. Ramos A., Mormede P. Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1998;22:33–57. DOI: 10.1016/S0149-7634 (97)00001-8.
35. Bourin M., Hascoët M. The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*. 2003;463(1–3):55–65. DOI: 10.1016/s0014-2999(03)01274-3.
36. Crawley J. N. Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1981;15(5):695–699. DOI: 10.1016/0091-3057(81)90007-1.
37. Salim S., Asghar M., Chugh G., Taneja M., Xia Z., Saha K., Oxidative stress: a potential recipe for anxiety, hypertension and insulin resistance. *Brain Research*. 2010;1359:178–185. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.08.093.
38. Aguilar B. L., Malkova L., N'Gouemo P., Forcelli P. A. Genetically epilepsy-prone rats display anxiety-like behaviors and neuropsychiatric comorbidities of epilepsy. *Frontiers in Neurology*. 2018;9:1–15. DOI: 10.3389/fneur.2018.00476.
39. Costall B., Jones B. J., Kelly M. E., Naylor R. J., Tomkins D. M. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1989;32(3):777–758. DOI: 10.1016/0091-3057(89)90033-6.
40. Montgomery K. C., The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1955;48(4):254–260. DOI: 10.1037/h0043788.
41. Gonzales L. E., File S. E. A five minute experience in the evaluated plus-maze alters the state of the benzodiazepine receptor in the dorsal raphe nucleus. *The Journal of Neuroscience*. 1997;17(4):1505–1511. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.17-04-01505.1997.
42. Walf A. A., Frye C. A. The use of the evaluated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*. 2007;2(2):322–328. DOI: 10.1038/nprot.2007.44.
43. Forcelli P. A., Turner J. R., Lee B. G., Olson T. T., Xie T., Xiao Y., Kellar K. J. Anxiolytic-and antidepressant-like effects of the methadone metabolite 2-ethyl-5-methyl-3, 3-diphenyl-1-pyrroline (EMDP). *Neuropharmacology*. 2016;101:46–56. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2015.09.012.
44. Ari C., D'Agostinio D. P., Diamond D. M., Kindy M., Park C., Kovacs Z., Elevated plus maze test combined with video tracking software to investigate the anxiolytic effect of exogenous ketogenic supplements. *Journal of Visualized Experiments*. 2019;143:1–10. DOI: 10.3791/58396.
45. Schrader A. J., Taylor R. M., Lowery-Gionta E. G., Moore N. L. Repeated elevated plus maze trials as a measure for tracking within-subjects behavioral performance in rats (Rattus norvegicus). *PLoS One*. 2018;13(11):e0207804. DOI: 10.1371/journal.pone.0207804.
46. Andrade M. M. M., Tomé M. F., Santiago E. S., Lúcia-Santos A., de Andrade T. G. C. S. Longitudinal study of daily variation of rats' behavior in the elevated plus-maze. *Physiology & Behavior*. 2003;78(1):125–133. DOI: 10.1016/s0031-9384(02)00941-1.
47. Carobrez A. P., Bertoglio L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the ebaluated plus-maze model 20 years. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2005;29(8):1193–1205. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2005.04.017.
48. Treit D., Menard J., Royan C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1993;44(2):463–469. DOI: 10.1016/0091-3057(93)90492-c.

49. Bertoglio L. J., Carobrez A. P. Behavioral profile of rats submitted to session 1-session 2 in the evaluated plus-maze during diurnal/nocturnal phases and under different illumination conditions. *Behavioural Brain Research*. 2002;132(2):135–143. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00396-5.
50. Adamec R., Strasser K., Blundell J., Burton P., McKay D. W. Protein synthesis and the mechanisms of lasting change in anxiety induced by severe stress. *Behavioural Brain Research*. 2006;167(2):270–286. DOI: 10.1016/j.bbr.2005.09.019.
51. Tucker L. B., McCabe J. T. Behavior of male and female C57BL/6J mice is more consistent with repeated trails in the elevated zero maze than in the evaluated plus maze. *Frontiers in journals behavioral neuroscience*. 2017;11. DOI: 10.3389/fnbeh.2017.00013.
52. Шиловская Е. В., Семина И. И., Тарасова Р. И., Байчурина А. З., Пашина И. П., Воскресенская О. В., Гараев Р. С., Фаттахов Ш. А., Газизов М. Б. Компьютерный прогноз, синтез и психотропные свойства гидразиниевых солей фосфорилацетогидразидов. *Химико-фармацевтический журнал*. 2013;47(4):26–29. DOI: 10.30906/0023-1134-2013-47-4-26-29.
53. Семина И. И., Байчурина А. З., Макарова Е. А., Леушина А. В., Казакевич Ж. В., Габдрахманова М. Р., Мухамедьяров М. А., Зефиров А. Л. Динамика развития поведенческих нарушений у трансгенных мышей с моделью болезни Альцхаймера. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014;158(11):568–571. DOI: 10.1007/s10517-015-2821-0.
54. Herbst L. S., Gaigher T., Siqueira A. A., Joca S. R. L., Sampaio K. N., Beijamini V. New evidence for refinement of anesthetic choice in procedures preceding the forced swimming test and the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*. 2019;368:111897. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.04.011.
55. Oguchi-Katayama A., Monma A., Sekino Y., Moriguchi T., Sato K. Comparative gene expression analysis of the amygdala in autistic rat models produced by pre-and post-natal exposures to valproic acid. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2013;38(3):391–402. DOI: 10.2131/jts.38.391.
56. Deacon R. M. The successive alleys test of anxiety in mice and rats. *Journal of Visualized Experiments*. 2013;76. DOI: 10.3791/2705.
57. Lahmann C., Clark R. H., Iberl M., Ashcroft F. M. A mutation causing increased KATP channel activity leads to reduced anxiety in mice. *Physiology & Behavior*. 2014;129:79–84. DOI: 10.1016/j.physbeh.2014.02.031.
58. Sakaguchi Y., Sakurai Y. Left–right functional asymmetry of ventral hippocampus depends on aversiveness of situations. *Behavioural Brain Research*. 2017;325:25–33. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.02.028.
59. Ewin S. E., Morgan J. W., Niere F., McMullen N. P., Barth S. H., Almonte A. G., Weiner J. L. Chronic intermittent ethanol exposure selectively increases synaptic excitability in the ventral domain of the rat hippocampus. *Journal of Neuroscience*. 2019;398:144–157. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2018.11.028.
60. Olton D. S., Becker J. T. Handelmann G. E. Hippocampus, space and memory. *Behavioral and Brain Sciences*. 1979;2(3):313–322. DOI: 10.1017/S0140525X00062713.
61. Rawlins J. N. P., Olton D. S. The septo-hippocampal system and cognitive mapping. *Behavioural Brain Research*. 1982;5(4):331–358. DOI: 10.1016/0166-4328(82)90039-0.
62. Lalon R. The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2002;26(1):91–104. DOI: 10.1016/s0149-7634(01)00041-0.
63. Deacon R. M., Bannerman D. M., Kirby B. P., Croucher A., Rawlins J. N. P. Effects of cytotoxic hippocampal lesions in mice on a cognitive test battery. *Behavioural Brain Research*. 2002;133(1):57–68. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00451-x.
64. Deacon R. M. J., Penny C., Rawlins J. N. P. Effects of medial prefrontal cortex cytotoxic lesions in mice. *Behavioural Brain Research*. 2003;139(1–2):139–155. DOI: 10.1016/s0166-4328(02)00225-5.
65. Deacon R. M. J. Digging and marble burying mice: simple methods for in vivo identification of biological impacts. *Nature Protocols*. 2006;1(1):122–124. DOI: 10.1038/nprot.2006.20
66. Dember W. N., Fowler H. Spontaneous alternation behavior. *Psychological Bulletin*. 1958;55(6):412–428. DOI: 10.1037/h0045446.
67. Asin K. E., Fibiger H. C. Spontaneous and delayed spatial alteration following damage to specific neuronal elements within the nucleus medianus raphe. *Behavioural Brain Research*. 1984;13(3):241–250. DOI: 10.1016/0166-4328(84)90166-9.
68. Duff K., Suleman F. Transgenic mouse models of Alzheimer's disease: how useful have they been for therapeutic development? Brief. *Functional genomics*. 2004;3(1):47–59. DOI: 10.1093/bfgp/3.1.47.
69. Hsiao K., Borchelt D. R., Olson K., Johannsdottir R., Kitt C., Yunis W., Xu S., Eckman C., Younkin S., Price D., Iadecola C., Clark H. B., Carlson G. Age-related CNS disorder and early death in transgenic FVB-Nmice overexpressing Alzheimer amyloid precursor proteins. *Neuron*. 1995;15(5):1203–1218. DOI: 10.1016/0896-6273(95)90107-8.
70. Demas G. E., Nelson R. J., Krueger B. K., Yarowsky P. J. Spatial memory deficits in segmental trisomic Ts65Dn mice. *Behavioural Brain Research*. 1996;82(1):85–92. DOI: 10.1016/s0166-4328(97)81111-4.
71. Campolongo M., Kazlauskas N., Falasco G., Urrutia L., Salgueiro N., Höcht C., Depino A. M. Sociability deficits after prenatal exposure to valproic acid are rescued by early social enrichment. *Molecular Autism*. 2018;9(1):1–17. DOI: 10.1186/s13229-018-0221-9.
72. Семенова А. А., Лопатина О. Л., Салмина А. Б. Модели аутизма и методики оценки аутистически-подобного поведения у животных. *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*. 2020;70(2):147–162. DOI: 10.31857/S0044467720020112.
73. Van Dam D., De Deyn P. P. Drug discovery in dementia: the role of rodent models. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006;5(11):956–970. DOI: 10.1038/nrd2075.
74. Bali Z. K., Inkeller J., Csurgyók R., Bruszt N., Horváth H., Hernádi I. Differential effects of α7 nicotinic receptor agonist PHA-543613 on spatial memory performance of rats in two distinct pharmacological dementia models. *Behavioural Brain Research*. 2015;278:404–410. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.10.030.
75. Hidaka N., Suemaru K., Takechi K., Li B., Araki H. Inhibitory effects of valproate on impairment of Y-maze alternation behavior induced by repeated electroconvulsive seizures and c-Fos protein levels in rat brains. *Acta medica Okayama*. 2011;65(4):269–277. DOI: 10.18926/AMO/46853.
76. Magen I., Fleming S. M., Zhu C., Garcia E. C., Cardiff K. M., Dinh D., David Jentsch J. Cognitive deficits in a mouse model of premanifest Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*. 2012;35(6):870–882. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2012.08012.x.
77. Плаксина Д. В., Екимова И. В. Возрастные особенности альфа-синуклеиновой патологии в головном мозге при моделировании доклинической стадии болезни Паркинсона у крыс. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. 2018;104(6):709–716. DOI: 10.7868/S086981391806014X.
78. Lieberwirth C., Pan Y., Liu Y., Zhang Z., Wang Z. Hippocampal adult neurogenesis: Its regulation and potential role in spatial learning and memory. *Brain Research*. 2016;1644:127–140. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.05.015.
79. Горина Я. В., Лопатина О. Л., Комлева Ю. К., Иптышев А. М., Польников А. М., Салмина А. Б. Восьмирукавный радиальный лабиринт как инструмент для оценки пространственного обучения и памяти у мышей. *Сибирское медицинское обозрение*. 2016;5(101):46–52.
80. Barnes C. A. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative Physiology*. 1979;93(1):74–104. DOI: 10.1037/h0077579.
81. O'Leary T. P., Brown R. E. Optimization of apparatus design and behavioral measures for the assessment of visuo-spatial learning and memory of mice on the Barnes maze. *Learning & Memory*. 2013;20(2):85–96. DOI: 10.1101/lm.028076.112.
82. Uriarte M., Ogundele O. M., Pardo J. Long-lasting training in the Barnes maze prompts hippocampal spinogenesis and habituation in rats. *NeuroReport*. 2017;28(6):307–312. DOI: 10.1097/WNR.0000000000000755.
83. Yamada M., Sakurai Y. An observational learning task using Barnes maze in rats. *Cognitive Neurodynamics*. 2018;12(5):519–523. DOI: 10.1007/s11571-018-9493-1.
84. Morel G. R., Andersen T., Pardo J., Zuccolilli G. O., Cambiaggi V. L., Hereñú C. B., Goya R. G. Cognitive impairment and morphological changes in the dorsal hippocampus of very old female rats. *Neuroscience*. 2015;303:189–199. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.050.

85. Tan H. M., Wills T. J., Cacucci F. The development of spatial and memory circuits in the rat. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*. 2016;125:159–167. DOI: 10.1002/wcs.1424.
86. Rosenfeld C. S., Ferguson S. A. Barnes maze testing strategies with small and large rodent models. *Journal of Visualized Experiments*. 2014;84. DOI: 10.3791/51194.
87. Gawel K., Labuz K., Gibula-Bruzda E., Jenda M., Marszalek-Grabska M., Filarowska J., Kotlinska, J. H. Cholinesterase inhibitors, donepezil and rivastigmine, attenuate spatial memory and cognitive flexibility impairment induced by acute ethanol in the Barnes maze task in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2016;389(10):1059–1071. DOI: 10.1007/s00210-016-1269-8.
88. Vargha-Khadem F. Differential Effects of Early Hippocampal Pathology on Episodic and Semantic Memory. *Science*. 1997;277(5324):376–380. DOI: 10.1126/science.277.5324.376.
89. Aggleton J. P., Brown M. W. Episodic memory, amnesia and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behavioral and Brain Sciences*.1999; 22(3): 425-444. DOI: 10.1017/S0140525X99002034
90. Eacott M. J., Easton A., Zinkivskay A. Recollection in an episodic-like memory task in the rat. *Learning & Memory*. 2005;12(3):221–223. DOI: 10.1101/lm.92505.
91. Fortin N. J., Wright S. P., Eichenbaum H. Recollection-like memory retrieval in rats is dependent on the hippocampus. *Nature*. 2004;431(7005):188–191. DOI: 10.1038/nature02853.
92. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*. 1984;11(1):47–60. DOI: 10.1016/0165-0270(84)90007-4.
93. Vorhees C. V. Williams M. T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*. 2006;1(2):848–858. DOI: 10.1038/nprot.2006.116.
94. Leggio M. G., Graziano A., Mandolesi L., Molinari M., Neri P., Petrosini L. A new paradigm to analyze observational learning in rats. *Brain research protocols*. 2003;12(2):83–90. DOI: 10.1016/j.brainresprot.2003.08.001.
95. Gehring T. V., Luksys G., Sandi C., Vasilaki E. detailed classification of swimming path in the Morris Water Maze: multiple strategies within one trial. *Scientific Reports*. 2015;5:14562. DOI: 10.1038/srep14562.
96. Левина А. С., Захаров Г. А., Ширяева Н. В., Вайдо А. И. Сравнительная характеристика поведения крыс двух линий, различающихся по порогу возбудимости нервной системы, в модели пространственного обучения в водном лабиринте Морриса. *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*. 2018;68(3):366–377. DOI: 10.7868/S0044467718030097
97. Zhang L., Fang Y., Cheng X., Lian Y., Xu H., Zeng Z., Zhu H. TRPML1 participates in the progression of Alzheimer's disease by regulating the PPARγ/AMPK/Mtor signalling pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;43(6):2446–2456. DOI: 10.1159/000484449.
98. Jaramillo T. C., Speed H. E., Xuan Z., Reimers J. M., Escamilla C. O., Weaver T. P., Powell C. M. Novel Shank3 mutant exhibits behaviors with face validity for autism and altered striatal and hippocampal function. *Autism Research*. 2017;10(1):42–65. DOI: 10.1002/aur.1664.
99. Svenson M., Hallin T., Broms J., Ekstrand J., Tingström A. Spatial memory impairment in Morris water maze after electroconvulsive seizures. *Acta Neuropsychiatrica*. 2016;29(01):17–26. DOI: 10.1017/neu.2016.22.
100. Laczó J., Markova H., Lobellova V., Gazova I., Parizkova M., Cerman J., Windisch M. Scopolamine disrupts place navigation in rats and humans: a translational validation of the Hidden Goal Task in the Morris water maze and a real maze for humans. *Journal of Psychopharmacology*. 2017;234(4):535–547. DOI: 10.1007/s00213-016-4488-2.
101. Liu Q., Shi J., Lin R., Wen T. Dopamine and dopamine receptor D1 associated with decreased social interaction. *Behavioural Brain Research*. 2017;324:51–57. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.01.045.
102. Ahmadi M., Rajaei Z., Hadjzadeh M. A., Nemati H., Hosseini M. Crocin improves spatial learning and memory deficits in the Morris water maze via attenuating cortical oxidative damage in diabetic rats. *Neuroscience Letters*. 2017;642:1–6. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.01.049.
103. de la Tremblaye P. B., Wellcome J. L., de Witt B. W., Cheng J. P., Skidmore E. R., Bondi C. O., Kline A. E. Rehabilitative success after brain trauma by augmenting a subtherapeutic dose of environmental enrichment with Galantamine. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2017;31(10–11):977–985. DOI: 10.1177/1545968317739999.
104. Alcalá J. A., Callejas-Aguilera J. E., Nelson J. B., Rosas J. M. Reversal training facilitates acquisition of new learning in a Morris water maze. *Learning & Behavior*. 2019;48:208–220. DOI: 10.3758/s13420-019-00392-7.
105. Cho H., Kim C. H., Knight E. Q., Oh H. W., Park B., Kim D. G., Park H.-J. Changes in brain metabolic connectivity underlie autistic-like social deficits in a rat model of autism spectrum disorder. *Scientific Reports*. 2017;7(1):13213. DOI: 10.1038/s41598-017-13642-3.
106. Fortunato J. J., da Rosa N., Laurentino A. O. M., Goulart M., Michalak C., Borges L. P., da Cruz Cittadin Soares E., Reis P. A., de Castro Faria Neto H. C., Petronilho F. Effects of ω-3 fatty acids on stereotypical behavior and social interactions in Wistar rats prenatally exposed to lipopolysaccarides. *Nutrition*. 2017;35:119–127. DOI: 10.1016/j.nut.2016.10.019.
107. Tickerhoof M. C., Hale L. H., Butler M. J., Smith A. S. Regulation of defeat-induced social avoidance by medial amygdala DRD1 in male and female prairie voles. *Psychoneuroendocrinology*. 2020;113:104542. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2019.104542.
108. Homberg J. R., Olivier J. D. A., VandenBroeke M., Youn J., Ellenbroe A. K., Karel P., Shan L., van Boxtel R., Ooms S., Balemans M., Langedijk J., Muller M., Vriend G., Cools A. R., Cuppen E., Ellenbroek B. A. The role of the dopamine D1 receptor in social cognition: studies using a novel genetic rat model. *Disease Models & Mechanisms*. 2016;9(10):1147–1158. DOI: 10.1242/dmm.024752.
109. Ahern M., Goodell D. J., Adams J., Bland S. T. Brain regional differences in social encounter-induced. Fos expression in male and female rats after post-weaning social isolation. *Brain Research*. 2016;1630:120–133. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.11.006.
110. Lopatina O., Yoshihara T., Nishimura T., Zhong J., Akther S., Fakhrul A. A. K. M., Liang M., Higashida C., Sumi K., Furuhara K., Inhata Y., Huang J.-J., Kozumi K., Yokoyama S., Tsuji T., Petugina Y., Sumarokov A., Salmina A. B., Hashida K., Kitano Y., Hori O., Asano M., Kitamura Y., Kozaka T., Shiba K., Zhong F., Xie M.-J., Sato M. Ishihara K., Higashida H. Anxiety- and depression-like behavior in mice lacking the C157/BST1 gene, a risk factor for Parkinson's disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2014;8(133). DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00133.
111. Degroote S., Hunting D. J., Baccarelli A. A., Takser L. Maternal gut and fetal brain connection: Increased anxiety and reduced social interactions in Wistar rat offspring following peri-conceptional antibiotic exposure. Prog. Neuropsychopharmacol. *Biological Psychiatry*. 2016;71:76–82. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2016.06.010.
112. Wu C. Y., Lerner F. M., e Silva A. C., Possoit H. E., Hsieh T. H., Neumann J. T., Lee R. H. Utilizing the modified T-maze to assess functional memory outcomes after cardiac arrest. *Journal of Visualized Experiments*. 2018;(131):e56694. DOI: 10.3791/56694.
113. Wang L., Simpson H. B., Dulawa S. C. Assessing the validity of current mouse genetic models of obsessive–compulsive disorder. *Behavioural Pharmacology*. 2009;20(2):119–133. DOI: 10.1097/fbp.0b013e32832a80ad.
114. Çalişkan H., Şentunali B., Özden F. M., Cihan K. H., Uzunkulaoğlu M., Çakan O., Zaloğlu N. Marble burying test analysis in terms of biological and non-biological factors. *Journal of Applied Biological Sciences*. 2017;11(1):54–57.
115. Choi C. S., Gonzales E. L., Kim K. C., Yang S. M., Kim J.-W., Mabunga D. F., Cheong J. H., Han S.-H., Bahn G. H., Shin C. Y. The transgenerational inheritance of autism-like phenotypes in mice exposed to valproic acid during pregnancy. *Scientific Reports*. 2016;6(1):36250. DOI: 10.1038/srep36250.
116. Salunke B. P., Umathe S. N., Chavan J. G. Experimental evidence for involvement of nitric oxide in low frequency magnetic field induced obsessive compulsive disorder-like behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2014;122:273–278. DOI: 10.1016/j.pbb.2014.04.007.
117. Vogel H. G., editor. Drug Effects on Learning and Memory. In: Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. Berlin: Springer-Verlag; 2008. P. 715–774. DOI: 10.1007/978-3-540-70995-4.
118. Costall B., Naylor R. J. On catalepsy and catatonia and the predictability of the catalepsy test for neuroleptic activity. *Psychopharmacologia*. 1974;34(3):233–241. DOI: 10.1007/BF00421964.
119. Morpurgo C. Effects of antiparkinsonian drugs on a phenothiazine-induced catatonic reaction. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie*. 1962;137:84-90.

120. Порфирьева Н. Н., Семина И. И., Мустафин Р. И., Хуторянский В. В. Интраназальное введение как способ доставки лекарств в головной мозг (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):117–127. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127.
121. Porfiryeva N. N., Semina, I. I., Salakhov I. A., Moustafine R. I., Khutoryanskiy V. V. Mucoadhesive and mucus-penetrating interpolyelectrolyte complexes for nose-to-brain drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicin*e. 2021;37:102432. DOI: 10.1016/j.nano.2021.102432.

REFERENCES

1. You R., Liu Y., Chang R. C. C. A behavioral test battery for the repeated assessment of motor skills, mood, and cognition in mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2019;(145):e58973. DOI: 10.3791/58973.
2. Bespalova A. Yu., Zvartau E. E., Birdsli P., Katts. D. Zh. Pharmacology of Behavior. A Reader. St. Petersburg: St. Petersburg State Medical University; 2013. 466 p. (In Russ.)
3. Hock F. J. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological assays. Berlin: Springer. 2015; 306 p. DOI: 10.1007/978-3-319-05392-9.
4. Rodgers R. J., Cao B. J., Dalvi A., Holmes A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 1997;30:289–304. DOI: 10.1590/s0100-879x1997000300002.
5. Sestakova N., Puzserova A., Kluknavsky M., Bernatova I., Determination of motor activity and anxiety related behavior in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdisciplinary Toxicology*. 2013;6(3):126–135. DOI: 10.2478/intox-2013-0020.
6. Hall C., Ballachey E. L. A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology. *University of California Publications in Psychology*. 1932;6:1–12. DOI: 10.1007/978-1-60761-303-9_1.
7. Broadhurst P. L. Psychogenetics of emotionality in the rat. *NYASA*. 1969;159(3):806–824. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1969.tb12980.x.
8. Henry B. L. Minassian A., Young J. W., Paulus M. P., Geyer M. A., Perry W. Cross–species assessments of motor and exploratory behavior related to bipolar disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2010;34(8):1296–1306. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2010.04.002.
9. Aitken P., Zheng Y., Smith P. F. Ethovision™ analysis of open field behaviour in rats following bilateral vestibular loss. *Journal of Vestibular Research*. 2017;27(2-3):89–101. DOI:10.3233/ves-170612.
10. Zamani M., Budde T., Bozorgi H. Intracerebroventricular administration of N-type calcium channel blocker ziconotide displays anticonvulsant, anxiolytic, and sedative effects in rats: A preclinical and pilot study. *Epilepsy & Behavior*. 2020;111:107251. DOI: 10.1016/j.yebeh.2020.107251.
11. Berton O. Ramos A., Chaouloff F., Mormede P. Behavioral reactivity to social and nonsocial stimulations: a multivariate analysis of six inbred rat strains. *Behavioral Genetics*. 1997;27:155–166. DOI: 10.1023/A:1025641509809.
12. Krishna S., Dodd C. A., Hekmatyar S. K., Filipov N. M. Brain deposition and neurotoxicity of manganese in adult mice exposed via the drinking water. *Archives of Toxicology*. 2014;88(1):47–64. DOI: 10.1007/s00204-013-1088-3.
13. Martin–Arenas F. J., Pintado C.O. Results of the Open Field Test at different light intensities in C57 mice. *Proceeding of Measuring Behavior*. 2014;322–326. DOI: 10.13140/RG.2.2.29920.74247.
14. Kovalev G. I., Vasil'eva E. V., Salimov R. M. Comparison of Mice Behavior in Open Field, Closed, and Elevated Plus Maze Tests Using Factor Analysis. *I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 2019;69(1):123–130. (In Russ.) DOI: 10.1134/S0044467719010064.
15. Ramos A., Correia E. C., Izídio G. S., Brüske G. R. Genetic selection of two new rat lines displaying different levels of anxiety-related behaviors. *Behavior Genetics*. 2003;33:657–668. DOI: 10.1023/A:1026131130686.
16. Abdurasulova I. N., Ekimova I. V., Chernyshev M. V., Matsulevich A. V., Pastukhov Yu. F. Impairment of cognitive functions in Wistar rats in a model of the preclinical stage of Parkinson's disease. *Journal of Higher Nervous Activity*. 2019;69(3):364–381. DOI: 10.1134/S004446771903003117. (In Russ.)
17. Pashina I. P., Semina I. I., Sidullina S. A., Tarasova R. I., Gazizov M. B., Mustafin R. I. Synthesis and psychotropic activity of hydrazides of arylhydroxyphosphorylacetic acids and their salts. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2013;47(8):19–22. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2013-47-8-19-22.
18. Swiergiel A. H., Dunn A. J. Effects of interleukin–1β and lipopolysaccharide on behavior of mice in the evaluated plus–maze and open field tests. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2007;86:651–659. DOI: 10.1016/j.pbb.2007.02.010.
19. Schiller G. D., Daws L. C., Overstreet D. H., Orbach J. Lack of anxiety in an animal model of depression with cholinergic supersensitivity. *Brain Research Bulletin*. 1991;26:433–435. DOI: 10.1016/0361-9230(91)90019-G.
20. Nikitin D. O., Nikitina A. V., Semina I. I., Baychurina A. Z., Sadykova R. G., Ovchinnikova A. G., Krutov I. A., Gabdrakhmanova D. F., Burangulova R. N., Gavrilova E. L. On the issue of psychotropic properties of new derivatives of phosphorylacetohydrazides – salts of arylphosphinic acids. *Modern problems of science and education*. 2019;3:107–107. (In Russ.)
21. van Erp. A. M., Kruk M. R., Meelis W., Willekens–Bramer D. C. Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self–grooming in the rat: handing, social contact, defeat, novelty, restrain and fut moistening. *Behavioural Brain Research*. 1994;65(1):47–55. DOI: 10.1016/0166-4328(94)90072-8.
22. Weiss I. C., Pryce C. R., Jonger–Relo A. L., Nanz–Bahr N. I., Feldon J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research*. 2004;152(2):279–295. DOI: 10.1016/j.bbr.2003.10.015.
23. Mach M., Grubbs R. D., Price W. A., Nagaoka M., Dubovický M., Lucot J. B. Delayed behavioral and endocrine effects of sarin and stress exposure in mice. *Journal of Applied Toxicology*. 2008;28(2):132–139. DOI: 10.1002/jat.1258.
24. Talarovičová A., Kršková L., Blažeková J. Testosterone enhancement during pregnancy influences the 2D: 4D ratio and open field motor activity of rat siblings in adulthood. *Hormones and Behavior*. 2009;55(1):235–239. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2008.10.010.
25. Ramos A., Berton O., Mormede P., Chaouloff F. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. *Behavioral Brain Research*. 1997;85(1):57–69. DOI: 10.1016/s0166-4328(96)00164-7.
26. McCormick C. M., Robarts D., Kopeikina K., Kelsey J. E. Long-lasting, sex-and age-specific effects of social stressors on corticosterone responses to restraint and on locomotor responses to psychostimulants in rats. *Hormones and Behavior*. 2005;48(1):64–74. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2005.01.008.
27. Bernatova I., Puzserova A., Dubovicky M. Sex differences in social stress-induced pressor and behavioral responses in normotensive and prehypertensive rats. *General Physiology and Biophysics*. 2010;29(4):346–354. DOI: 10.4149/gpb_2010_04_346.
28. Rasmussen S., Miller M. M., Filipski S. B., Tolwani R. J. Cage change influences serum corticosterone and anxiety-like behaviors in the mouse. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2011;50(4):479–483.
29. Pritchard L. M., Van Kempen T. A., Zimmerberg B. Behavioral effects of repeated handling differ in rats reared in social isolation and environmental enrichment. *Neuroscience Letters*. 2013;536:47–51. DOI: 10.1016/j.neulet.2012.12.048.
30. Pitsikas N., Georgiadou G., Delis F., Antoniou K. Effects of Anesthetic Ketamine on Anxiety-Like Behaviour in Rats. *Neurochemical Research*. 2019;44(4):829–838. DOI: 10.1007/s11064-018-02715-y.
31. Kovalev G. I., Firstova Yu. Yu., Salimov R. M. Effects of piracetam and acephene on NMDA and nicotinic receptors in the brains of mice with different exploratory behavior in the plus maze. *Experimental and clinical pharmacology*. 2008;71(1):12–17. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2008-71-1-12-17.
32. Voronina T. A., Ostrovskaya R. U., Garibova, T. L. Guidelines for the preclinical study of drugs with a nootropic type of action. In: Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1. Moscow: FSBI "NTsESMP" of the Ministry of Health and Social Development of Russia, Grif and K; 2012. 264–275 p. (In Russ.)

33. Crawley J., Goodwin F. K., Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1980;13(2):167–170. DOI: 10.1016/0091-3057(80)90067-2.
34. Ramos A., Mormede P. Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1998;22:33–57. DOI: 10.1016/S0149-7634 (97)00001-8.
35. Bourin M., Hascoët M. The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*. 2003;463(1–3):55–65. DOI: 10.1016/s0014-2999(03)01274-3.
36. Crawley J. N. Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1981;15(5):695–699. DOI: 10.1016/0091-3057(81)90007-1.
37. Salim S., Asghar M., Chugh G., Taneja M., Xia Z., Saha K., Oxidative stress: a potential recipe for anxiety, hypertension and insulin resistance. *Brain Research*. 2010;1359:178–185. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.08.093.
38. Aguilar B. L., Malkova L., N'Gouemo P., Forcelli P. A. Genetically epilepsy-prone rats display anxiety-like behaviors and neuropsychiatric comorbidities of epilepsy. *Frontiers in Neurology*. 2018;9:1–15. DOI: 10.3389/fneur.2018.00476.
39. Costall B., Jones B. J., Kelly M. E., Naylor R. J., Tomkins D. M. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1989;32(3):777–758. DOI: 10.1016/0091-3057(89)90033-6.
40. Montgomery K. C., The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1955;48(4):254–260. DOI: 10.1037/h0043788.
41. Gonzales L. E., File S. E. A five minute experience in the evaluated plus-maze alters the state of the benzodiazepine receptor in the dorsal raphe nucleus. *The Journal of Neuroscience*. 1997;17(4):1505–1511. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.17-04-01505.1997.
42. Walf A. A., Frye C. A. The use of the evaluated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*. 2007;2(2):322–328. DOI: 10.1038/nprot.2007.44.
43. Forcelli P. A., Turner J. R., Lee B. G., Olson T. T., Xie T., Xiao Y., Kellar K. J. Anxiolytic-and antidepressant-like effects of the methadone metabolite 2-ethyl-5-methyl-3, 3-diphenyl-1-pyrroline (EMDP). *Neuropharmacology*. 2016;101:46–56. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2015.09.012.
44. Ari C., D'Agostinio D. P., Diamond D. M., Kindy M., Park C., Kovacs Z., Elevated plus maze test combined with video tracking software to investigate the anxiolytic effect of exogenous ketogenic supplements. *Journal of Visualized Experiments*. 2019;143:1–10. DOI: 10.3791/58396.
45. Schrader A. J., Taylor R. M., Lowery-Gionta E. G., Moore N. L. Repeated elevated plus maze trials as a measure for tracking within-subjects behavioral performance in rats (Rattus norvegicus). *PLoS One*. 2018;13(11):e0207804. DOI: 10.1371/journal.pone.0207804.
46. Andrade M. M. M., Tomé M. F., Santiago E. S., Lúcia-Santos A., de Andrade T. G. C. S. Longitudinal study of daily variation of rats' behavior in the elevated plus-maze. *Physiology & Behavior*. 2003;78(1):125–133. DOI: 10.1016/s0031-9384(02)00941-1.
47. Carobrez A. P., Bertoglio L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the ebaluated plus-maze model 20 years. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2005;29(8):1193–1205. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2005.04.017.
48. Treit D., Menard J., Royan C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1993;44(2):463–469. DOI: 10.1016/0091-3057(93)90492-c.
49. Bertoglio L. J., Carobrez A. P. Behavioral profile of rats submitted to session 1-session 2 in the evaluated plus-maze during diurnal/nocturnal phases and under different illumination conditions. *Behavioural Brain Research*. 2002;132(2):135–143. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00396-5.
50. Adamec R., Strasser K., Blundell J., Burton P., McKay D. W. Protein synthesis and the mechanisms of lasting change in anxiety induced by severe stress. *Behavioural Brain Research*. 2006;167(2):270–286. DOI: 10.1016/j.bbr.2005.09.019.
51. Tucker L. B., McCabe J. T. Behavior of male and female C57BL/6J mice is more consistent with repeated trails in the elevated zero maze than in the evaluated plus maze. *Frontiers in journals behavioral neuroscience*. 2017;11. DOI: 10.3389/fnbeh.2017.00013.
52. Shilovskaya E. V., Semina I. I., Tarasova R. I., Baychurina A. Z., Pashina I. P., Voskresenskaya O. V., Garaev R. S., Fattakhov Sh. A., Gazizov M. B. Computer prediction, synthesis and psychotropic properties of hydrazinium salts of phosphorylacetohydrazides. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2013;47(4):26–29. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2013-47-4-26-29.
53. Semina I. I., Baychurina A. Z., Makarova E. A., Leushina A. V., Kazakevich Zh. V., Gabdrakhmanova M. R., Mukhamed'yarov M. A., Zefirov A. L. Dynamics of the development of behavioral disorders in transgenic mice with a model of Alzheimer's disease. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014;158(11):568–571. (In Russ.) DOI: 10.1007/s10517-015-2821-0.
54. Herbst L. S., Gaigher T., Siqueira A. A., Joca S. R. L., Sampaio K. N., Beijamini V. New evidence for refinement of anesthetic choice in procedures preceding the forced swimming test and the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*. 2019;368:111897. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.04.011.
55. Oguchi-Katayama A., Monma A., Sekino Y., Moriguchi T., Sato K. Comparative gene expression analysis of the amygdala in autistic rat models produced by pre-and post-natal exposures to valproic acid. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2013;38(3):391–402. DOI: 10.2131/jts.38.391.
56. Deacon R. M. The successive alleys test of anxiety in mice and rats. *Journal of Visualized Experiments*. 2013;76. DOI: 10.3791/2705.
57. Lahmann C., Clark R. H., Iberl M., Ashcroft F. M. A mutation causing increased KATP channel activity leads to reduced anxiety in mice. *Physiology & Behavior*. 2014;129:79–84. DOI: 10.1016/j.physbeh.2014.02.031.
58. Sakaguchi Y., Sakurai Y. Left–right functional asymmetry of ventral hippocampus depends on aversiveness of situations. *Behavioural Brain Research*. 2017;325:25–33. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.02.028.
59. Ewin S. E., Morgan J. W., Niere F., McMullen N. P., Barth S. H., Almonte A. G., Weiner J. L. Chronic intermittent ethanol exposure selectively increases synaptic excitability in the ventral domain of the rat hippocampus. *Journal of Neuroscience*. 2019;398:144–157. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2018.11.028.
60. Olton D. S., Becker J. T. Handelmann G. E. Hippocampus, space and memory. *Behavioral and Brain Sciences*. 1979;2(3):313–322. DOI: 10.1017/S0140525X00062713.
61. Rawlins J. N. P., Olton D. S. The septo-hippocampal system and cognitive mapping. *Behavioural Brain Research*. 1982;5(4):331–358. DOI: 10.1016/0166-4328(82)90039-0.
62. Lalon R. The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2002;26(1):91–104. DOI: 10.1016/s0149-7634(01)00041-0.
63. Deacon R. M., Bannerman D. M., Kirby B. P., Croucher A., Rawlins J. N. P. Effects of cytotoxic hippocampal lesions in mice on a cognitive test battery. *Behavioural Brain Research*. 2002;133(1):57–68. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00451-x.
64. Deacon R. M. J., Penny C., Rawlins J. N. P. Effects of medial prefrontal cortex cytotoxic lesions in mice. *Behavioural Brain Research*. 2003;139(1–2):139–155. DOI: 10.1016/s0166-4328(02)00225-5.
65. Deacon R. M. J. Digging and marble burying mice: simple methods for in vivo identification of biological impacts. *Nature Protocols*. 2006;1(1):122–124. DOI: 10.1038/nprot.2006.20
66. Dember W. N., Fowler H. Spontaneous alternation behavior. *Psychological Bulletin*. 1958;55(6):412–428. DOI: 10.1037/h0045446.
67. Asin K. E., Fibiger H. C. Spontaneous and delayed spatial alteration following damage to specific neuronal elements within the nucleus medianus raphe. *Behavioural Brain Research*. 1984;13(3):241–250. DOI: 10.1016/0166-4328(84)90166-9.
68. Duff K., Suleman F. Transgenic mouse models of Alzheimer's disease: how useful have they been for therapeutic development? Brief. *Functional genomics*. 2004;3(1):47–59. DOI: 10.1093/bfgp/3.1.47.
69. Hsiao K., Borchelt D. R., Olson K., Johannsdottir R., Kitt C., Yunis W., Xu S., Eckman C., Younkin S., Price D., Iadecola C., Clark H. B., Carlson G. Age-related CNS disorder and early death in transgenic

FVB-Nmice overexpressing Alzheimer amyloid precursor proteins. *Neuron*. 1995;15(5):1203–1218. DOI: 10.1016/0896-6273(95)90107-8.
70. Demas G. E., Nelson R. J., Krueger B. K., Yarowsky P. J. Spatial memory deficits in segmental trisomic Ts65Dn mice. *Behavioural Brain Research*. 1996;82(1):85–92. DOI: 10.1016/s0166-4328(97)81111-4.
71. Campolongo M., Kazlauskas N., Falasco G., Urrutia L., Salgueiro N., Höcht C., Depino A. M. Sociability deficits after prenatal exposure to valproic acid are rescued by early social enrichment. *Molecular Autism*. 2018;9(1):1–17. DOI: 10.1186/s13229-018-0221-9.
72. Semenova A. A., Lopatina O. L., Salmina A. B. Models of autism and methods for assessing autism-like behavior in animals. *I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 2020;70(2):147–162. (In Russ.) DOI: 10.31857/S0044467720020112.
73. Van Dam D., De Deyn P. P. Drug discovery in dementia: the role of rodent models. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006;5(11):956–970. DOI: 10.1038/nrd2075.
74. Bali Z. K., Inkeller J., Csurgyók R., Bruszt N., Horváth H., Hernádi I. Differential effects of α7 nicotinic receptor agonist PHA-543613 on spatial memory performance of rats in two distinct pharmacological dementia models. *Behavioural Brain Research*. 2015;278:404–410. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.10.030.
75. Hidaka N., Suemaru K., Takechi K., Li B., Araki H. Inhibitory effects of valproate on impairment of Y-maze alternation behavior induced by repeated electroconvulsive seizures and c-Fos protein levels in rat brains. *Acta medica Okayama*. 2011;65(4):269–277. DOI: 10.18926/AMO/46853.
76. Magen I., Fleming S. M., Zhu C., Garcia E. C., Cardiff K. M., Dinh D., David Jentsch J. Cognitive deficits in a mouse model of premanifest Parkinson's disease. *European Journal of Neuroscience*. 2012;35(6):870–882. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2012.08012.x.
77. Plaksina D. V., Ekimova I. V. Age-related features of alpha-synuclein pathology in the brain in modeling the preclinical stage of Parkinson's disease in rats. *Russian Physiological Journal. I. M. Sechenov*. 2018;104(6):709–716. (In Russ.) DOI: 10.7868/S086981391806014X.
78. Lieberwirth C., Pan Y., Liu Y., Zhang Z., Wang Z. Hippocampal adult neurogenesis: Its regulation and potential role in spatial learning and memory. *Brain Research*. 2016;1644:127–140. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.05.015.
79. Gorina Y. V., Lopatina O. L., Komleva Y. K., Iptyshev A. M., Pol'nikov A. M., Salmina A. B. Eight-arm radial maze as a tool for evaluating spatial learning and memory in mice. *Siberian Medical Review*. 2016;5(101):46–52. (In Russ.)
80. Barnes C. A. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative Physiology*. 1979;93(1):74–104. DOI: 10.1037/h0077579.
81. O'Leary T. P., Brown R. E. Optimization of apparatus design and behavioral measures for the assessment of visuo-spatial learning and memory of mice on the Barnes maze. *Learning & Memory*. 2013;20(2):85–96. DOI: 10.1101/lm.028076.112.
82. Uriarte M., Ogundele O. M., Pardo J. Long-lasting training in the Barnes maze prompts hippocampal spinogenesis and habituation in rats. *NeuroReport*. 2017;28(6):307–312. DOI: 10.1097/WNR.0000000000000755.
83. Yamada M., Sakurai Y. An observational learning task using Barnes maze in rats. *Cognitive Neurodynamics*. 2018;12(5):519–523. DOI: 10.1007/s11571-018-9493-1.
84. Morel G. R., Andersen T., Pardo J., Zuccolilli G. O., Cambiaggi V. L., Hereñú C. B., Goya R. G. Cognitive impairment and morphological changes in the dorsal hippocampus of very old female rats. *Neuroscience*. 2015;303:189–199. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.050.
85. Tan H. M., Wills T. J., Cacucci F. The development of spatial and memory circuits in the rat. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*. 2016;125:159–167. DOI: 10.1002/wcs.1424.
86. Rosenfeld C. S., Ferguson S. A. Barnes maze testing strategies with small and large rodent models. *Journal of Visualized Experiments*. 2014;84. DOI: 10.3791/51194.
87. Gawel K., Labuz K., Gibula-Bruzda E., Jenda M., Marszalek-Grabska M., Filarowska J., Kotlinska, J. H. Cholinesterase inhibitors, donepezil and rivastigmine, attenuate spatial memory and cognitive flexibility impairment induced by acute ethanol in the Barnes maze task in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2016;389(10):1059–1071. DOI: 10.1007/s00210-016-1269-8.
88. Vargha-Khadem F. Differential Effects of Early Hippocampal Pathology on Episodic and Semantic Memory. *Science*. 1997;277(5324):376–380. DOI: 10.1126/science.277.5324.376.
89. Aggleton J. P., Brown M. W. Episodic memory, amnesia and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behavioral and Brain Sciences*.1999; 22(3): 425-444. DOI: 10.1017/S0140525X99002034
90. Eacott M. J., Easton A., Zinkivskay A. Recollection in an episodic-like memory task in the rat. *Learning & Memory*. 2005;12(3):221–223. DOI: 10.1101/lm.92505.
91. Fortin N. J., Wright S. P., Eichenbaum H. Recollection-like memory retrieval in rats is dependent on the hippocampus. *Nature*. 2004;431(7005):188–191. DOI: 10.1038/nature02853.
92. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*. 1984;11(1):47–60. DOI: 10.1016/0165-0270(84)90007-4.
93. Vorhees C. V. Williams M. T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*. 2006;1(2):848–858. DOI: 10.1038/nprot.2006.116.
94. Leggio M. G., Graziano A., Mandolesi L., Molinari M., Neri P., Petrosini L. A new paradigm to analyze observational learning in rats. *Brain research protocols*. 2003;12(2):83–90. DOI: 10.1016/j.brainresprot.2003.08.001.
95. Gehring T. V., Luksys G., Sandi C., Vasilaki E. detailed classification of swimming path in the Morris Water Maze: multiple strategies within one trial. *Scientific Reports*. 2015;5:14562. DOI: 10.1038/srep14562.
96. Levina A. S., Zakharov G. A., Shiryaeva N. V., Vaydo A. I. Comparative characteristics of the behavior of rats of two lines, differing in the threshold of excitability of the nervous system, in the model of spatial learning in the Morris water maze. *I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 2018;68(3):366–377. (In Russ.) DOI: 10.7868/S0044467718030097.
97. Zhang L., Fang Y., Cheng X., Lian Y., Xu H., Zeng Z., Zhu H. TRPML1 participates in the progression of Alzheimer's disease by regulating the PPARγ/AMPK/Mtor signalling pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;43(6):2446–2456. DOI: 10.1159/000484449.
98. Jaramillo T. C., Speed H. E., Xuan Z., Reimers J. M., Escamilla C. O., Weaver T. P., Powell C. M. Novel Shank3 mutant exhibits behaviors with face validity for autism and altered striatal and hippocampal function. *Autism Research*. 2017;10(1):42–65. DOI: 10.1002/aur.1664.
99. Svenson M., Hallin T., Broms J., Ekstrand J., Tingström A. Spatial memory impairment in Morris water maze after electroconvulsive seizures. *Acta Neuropsychiatrica*. 2016;29(01):17–26. DOI: 10.1017/neu.2016.22.
100. Laczó J., Markova H., Lobellova V., Gazova I., Parizkova M., Cerman J., Windisch M. Scopolamine disrupts place navigation in rats and humans: a translational validation of the Hidden Goal Task in the Morris water maze and a real maze for humans. *Journal of Psychopharmacology*. 2017;234(4):535–547. DOI: 10.1007/s00213-016-4488-2.
101. Liu Q., Shi J., Lin R., Wen T. Dopamine and dopamine receptor D1 associated with decreased social interaction. *Behavioural Brain Research*. 2017;324:51–57. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.01.045.
102. Ahmadi M., Rajaei Z., Hadjzadeh M. A., Nemati H., Hosseini M. Crocin improves spatial learning and memory deficits in the Morris water maze via attenuating cortical oxidative damage in diabetic rats. *Neuroscience Letters*. 2017;642:1–6. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.01.049.
103. de la Tremblaye P. B., Wellcome J. L., de Witt B. W., Cheng J. P., Skidmore E. R., Bondi C. O., Kline A. E. Rehabilitative success after brain trauma by augmenting a subtherapeutic dose of environmental enrichment with Galantamine. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2017;31(10–11):977–985. DOI: 10.1177/1545968317739999.
104. Alcalá J. A., Callejas-Aguilera J. E., Nelson J. B., Rosas J. M. Reversal training facilitates acquisition of new learning in a Morris water maze. *Learning & Behavior*. 2019;48:208–220. DOI: 10.3758/s13420-019-00392-7.
105. Cho H., Kim C. H., Knight E. Q., Oh H. W., Park B., Kim D. G., Park H.-J. Changes in brain metabolic connectivity underlie autistic-like social deficits in a rat model of autism spectrum disorder. *Scientific Reports*. 2017;7(1):13213. DOI: 10.1038/s41598-017-13642-3.

106. Fortunato J. J., da Rosa N., Laurentino A. O. M., Goulart M., Michalak C., Borges L. P., da Cruz Cittadin Soares E., Reis P. A., de Castro Faria Neto H. C., Petronilho F. Effects of ω-3 fatty acids on stereotypical behavior and social interactions in Wistar rats prenatally exposed to lipopolysaccarides. *Nutrition*. 2017;35:119–127. DOI: 10.1016/j.nut.2016.10.019.
107. Tickerhoof M. C., Hale L. H., Butler M. J., Smith A. S. Regulation of defeat-induced social avoidance by medial amygdala DRD1 in male and female prairie voles. *Psychoneuroendocrinology*. 2020;113:104542. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2019.104542.
108. Homberg J. R., Olivier J. D. A., VandenBroeke M., Youn J., Ellenbroe A. K., Karel P., Shan L., van Boxtel R., Ooms S., Balemans M., Langedijk J., Muller M., Vriend G., Cools A. R., Cuppen E., Ellenbroek B. A. The role of the dopamine D1 receptor in social cognition: studies using a novel genetic rat model. *Disease Models & Mechanisms*. 2016;9(10):1147–1158. DOI: 10.1242/dmm.024752.
109. Ahern M., Goodell D. J., Adams J., Bland S. T. Brain regional differences in social encounter-induced. Fos expression in male and female rats after post-weaning social isolation. *Brain Research*. 2016;1630:120–133. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.11.006.
110. Lopatina O., Yoshihara T., Nishimura T., Zhong J., Akther S., Fakhrul A. A. K. M., Liang M., Higashida C., Sumi K., Furuhara K., Inhata Y., Huang J.-J., Kozumi K., Yokoyama S., Tsuji T., Petugina Y., Sumarokov A., Salmina A. B., Hashida K., Kitano Y., Hori O., Asano M., Kitamura Y., Kozaka T., Shiba K., Zhong F., Xie M.-J., Sato M. Ishihara K., Higashida H. Anxiety- and depression-like behavior in mice lacking the C157/BST1 gene, a risk factor for Parkinson's disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2014;8(133). DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00133.
111. Degroote S., Hunting D. J., Baccarelli A. A., Takser L. Maternal gut and fetal brain connection: Increased anxiety and reduced social interactions in Wistar rat offspring following peri-conceptional antibiotic exposure. Prog. Neuropsychopharmacol. *Biological Psychiatry*. 2016;71:76–82. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2016.06.010.
112. Wu C. Y., Lerner F. M., e Silva A. C., Possoit H. E., Hsieh T. H., Neumann J. T., Lee R. H. Utilizing the modified T-maze to assess functional memory outcomes after cardiac arrest. *Journal of Visualized Experiments*. 2018;(131):e56694. DOI: 10.3791/56694.
113. Wang L., Simpson H. B., Dulawa S. C. Assessing the validity of current mouse genetic models of obsessive–compulsive disorder. *Behavioural Pharmacology*. 2009;20(2):119–133. DOI: 10.1097/fbp.0b013e32832a80ad.
114. Çalişkan H., Şentunali B., Özden F. M., Cihan K. H., Uzunkulaoğlu M., Çakan O., Zaloğlu N. Marble burying test analysis in terms of biological and non-biological factors. *Journal of Applied Biological Sciences*. 2017;11(1):54–57.
115. Choi C. S., Gonzales E. L., Kim K. C., Yang S. M., Kim J.-W., Mabunga D. F., Cheong J. H., Han S.-H., Bahn G. H., Shin C. Y. The transgenerational inheritance of autism-like phenotypes in mice exposed to valproic acid during pregnancy. *Scientific Reports*. 2016;6(1):36250. DOI: 10.1038/srep36250.
116. Salunke B. P., Umathe S. N., Chavan J. G. Experimental evidence for involvement of nitric oxide in low frequency magnetic field induced obsessive compulsive disorder-like behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2014;122:273–278. DOI: 10.1016/j.pbb.2014.04.007.
117. Vogel H. G., editor. Drug Effects on Learning and Memory. In: Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. Berlin: Springer-Verlag; 2008. P. 715–774. DOI: 10.1007/978-3-540-70995-4.
118. Costall B., Naylor R. J. On catalepsy and catatonia and the predictability of the catalepsy test for neuroleptic activity. *Psychopharmacologia*. 1974;34(3):233–241. DOI: 10.1007/BF00421964.
119. Morpurgo C. Effects of antiparkinsonian drugs on a phenothiazine-induced catatonic reaction. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie*. 1962;137:84-90.
120. Porfiryeva N. N., Semina I. I., Mustafin R. I., Khutoryanskiy V. V. Intranasal administration as a way to deliver drugs to the brain (review). *Drug Development & Registration*. 2021;10(4):117–127. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127.
121. Porfiryeva N. N., Semina, I. I., Salakhov I. A., Moustafine R. I., Khutoryanskiy V. V. Mucoadhesive and mucus-penetrating interpolyelectrolyte complexes for nose-to-brain drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicin*e. 2021;37:102432. DOI: 10.1016/j.nano.2021.102432.