

С. В. Грабовська, Ю.Т. Салига

Вплив хронічної інтоксикації низькими дозами хлорпірифосу на поведінку самиць щурів

Інститут біології тварин НААН, Львів; E-mail: yursalyha@yahoo.com

У роботі досліджували вплив тривалої дії низьких доз хлорпірифосу на поведінку самиць лабораторних щурів. Тваринам щоденно протягом місяця вводили хлорпірифос у дозах 5 та 10 мг/кг і вивчали його вплив на низку важливих поведінкових показників за допомогою тестів: водний лабіринт Морріса, відкрите поле та темно-світла камера. Виявлено, що хлорпірифос у дозі 10 мг/кг погіршує коротко- та довготривалу просторову пам'ять, знижує загальну активність, спричиняє різкі коливання рівня тривожності (вона значно зростала на початку введення ксенобіотика, та з часом нормалізувалася). Аналогічні тенденції, хоча менш виражені, спостерігали в групі, яка одержувала токсичну сполуку в дозі 5 мг/кг. Результати дослідження дають змогу зробити висновок, що тривале (30 діб) надходження в організм самиць щурів малих доз хлорпірифосу негативно впливає на функціональний стан їх нервової системи.

Ключові слова: хлорпірифос; фосфорорганічні сполуки; щури; поведінка; пам'ять; відкрите поле; водний лабіринт Морріса; темно-світла камера.

ВСТУП

Хлорпірифос (ХПФ) ($C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$) – це фосфорорганічна сполука (ФОС), яка є діючою речовиною багатьох поширених пестицидних препаратів. Основний механізм токсичного ефекту ХПФ, як і решти ФОС, полягає в інгібуванні холінергез (групи ферментів класу гідролаз карбонових кислот, субстратами яких є складні ефіри холіну з оцтовою, пропіоновою чи масляною кислотами), дія на холінергічні синапси та нейротоксичні ефекти внаслідок цього. Однією з головних причин отруєння ФОС є накопичення негідролізованого ацетилхоліну, що призводить спершу до інтенсифікації проведення нервових імпульсів (збудження), а згодом, навпаки – до блокування їх передачі (гальмування) [1]. Показано, що нейротоксичність ХПФ не обмежується тільки антихолінергічною дією, а може також реалізовуватись за допомогою інших механізмів, зокрема через

порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу і виникнення оксидативного стресу [2, 3].

Оскільки пестициди на основі ФОС широко використовуються у сільському господарстві, то актуальним стає питання про можливу нейротоксичну дію їх на організм людини. Хронічне введення низьких доз ФОС, які не спричиняють видимих гострих ефектів, може викликати появу розладів роботи ЦНС, погіршення когнітивних функцій, послаблення пам'яті у дітей [4] та навіть ставати причиною розвитку хвороби Паркінсона [5] та аутизму [6]. Можливість негативного впливу ХПФ на функціонування нервової системи показана у дослідях з тваринами різних видів та класів. Субхронічне введення невеликих доз (0,01 та 0,1 мкмоль/л) ХПФ малькам акваріумних риб *Danio rerio* змінює їхню поведінку, що виражається, зокрема, у зниженні швидкості плавання, тигмотаксисі, зростанні тривожності [7]. Показано,

© С.В. Грабовська, Ю.Т. Салига

що вплив невеликих доз ХПФ на мишенят протягом неонатального періоду спричиняє порушення розвитку їхнього мозку та посилення статевих відмінностей поведінки [8]. Встановлено довготермінову затримку когнітивного розвитку та підвищення тривожності у мишенят, народжених самицями, які протягом вагітності одержували мікродози ХПФ [9]. Пренатальна дія ХПФ може викликати в поведінці мишей порушення, подібні до тих, які спостерігаються при аутизмі [10]. Введення ХПФ в період раннього неонатального розвитку тварин може призводити до появи симптомів депресії [11]. Встановлено, що у щурів, які одержували ХПФ у дозі 1 мг/кг·на добу у перші чотири доби після народження, по досягненні ними дорослого віку розвивалися депресивні симптоми: ангедонія (зниження чи втрата здатності отримувати задоволення), погіршення пам'яті та інші поведінкові порушення. Такі ефекти автори пов'язують із впливом невеликих (субтоксичних) доз ХПФ на серотонінергічну систему, порушення нормального функціонування якої викликає депресивні прояви [11].

У щурів, яким періодично підшкірно вводили ХПФ у дозах 10 та 18 мг/кг на добу, суттєво порушувалася пам'ять та здатність до просторового навчання у радіальному лабіринті та водному тесті Морріса. У водному тесті не лише збільшувався час, необхідний тваринам для запам'ятовування положення підводної платформи, але й виникали труднощі з виявленням платформи після зміни її положення (зниження гнучкості мислення) [12, 13].

Мета нашої роботи – виявити та дослідити можливий вплив тривалого (щоденно протягом місяця) введення низьких доз ХПФ (5 та 10 мг/кг), які є значно нижчими за гостро токсичні та вважаються умовно безпечними, на поведінку самиць щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження були проведені на 30 молодих статевозрілих самицях білих лабораторних щурів лінії Вістар масою тіла 160–220 г, яких утримували у стандартних умовах віварію з дотриманням 12-годинного режиму освітлення (темнота/світло), необмеженим доступом до питної води та корму. Тваринам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції “Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей” від 18.03.1986 р. [14], Директиви ЄС №609 від 24.11.1986 р. і “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики у Києві 2001 р. (протокол № 42 від 01.11.13 засідання комісії з біоетичної експертизи Інституту біології тварин НААН).

Було сформовано три групи тварин (контрольну і дві дослідні, 1-ша та 2-га), по 10 щурів у кожній. Тваринам дослідних груп щоденно протягом місяця за допомогою перорального зонда вводили розчинений в олії ХПФ («Sigma-Aldrich», США) з розрахунку 5 мг/кг (перша) і 10 мг/кг (друга). Інтактним тваринам контрольної групи замість препарату вводили чисту олію в еквівалентному об'ємі.

Для дослідження впливу тривалого введення низьких доз ХПФ на функціональний стан ЦНС самиць щурів їх тестували за наступними поведінковими методиками: водний лабіринт Морріса, відкрите поле та темно-світла камера [15-17]. Для уникнення артефактів за дві години до тестування тварин поміщали у тихе, слабо освітлюване місце. У цей період не проводили перегрупування тварин, не годували їх і не здійснювали жодних інших маніпуляцій. Усі тестування проводили в один і той самий час доби, за однакових умов освітлення і температури, за відсутності сторонніх запахів і шуму.

Для проведення водного тесту Морріса використовували басейн діаметром 1,8 м та глибиною 40 см, з переносною плексигласовою платформою-острівком, встановленою на 1 см нижче рівня води. Воду у басейні робили непрозорою за допомогою сухого молока (для неможливості візуального знаходження платформи), температуру води підтримували на рівні 20-28 °С. Навколо басейну на штативах рівновіддалено були розміщені 4 різні картонні геометричні фігури для полегшення просторової орієнтації тварин. Процедуру тестування тварин фіксували відеокамерою для подальшого аналізу і статистичної обробки. Кожній тварині надавали по 2 послідовні спроби, з інтервалом 10-15 хв, для знаходження невидимої у замутненій воді платформи. Фіксували час, витрачений твариною в процесі досягнення цієї мети. У разі, якщо тварина не знаходила платформи протягом 3 хв, тестування зупиняли і спробу зараховували як невдалу.

У тесті відкрите поле використовували експериментальну установку квадратної форми, виготовлену з плексигласу. Вона мала розміри 80x80 см, висота бокових стінок становила 40 см. Дно установки було розділене на 16 однакових за площею квадратів – 12 зовнішніх та 4 внутрішні. Тестування кожної тварини проводили протягом 3 хв, під час цього реєстрували горизонтальну рухову активність (кількість перетнутих твариною зовнішніх і внутрішніх квадратів), вертикальну рухову активність (кількість стійок на задніх кінцівках), кількість актів дефекації та грумінгу. Грумінг тварин фіксували за двома категоріями: короткий і довгий. Короткий грумінг характеризувався 1-2 швидкими круговими рухами лап навколо носа і невеликої ділянки біля нього, а довгий – вмиванням ділянки очей, заведенням передніх кінцівок за вуха і переходом на вмивання всієї голови, кінцівок, боків тулуба, аногенітальної ділянки та хвоста.

Темно-світла камера складалася з двох однакових за розмірами кубічних частин –

забарвленої у чорний колір комірки з кришкою і білої без кришки, яку додатково освітлювали лампою денного світла. Комірки були сполучені невеликим отвором-ніркою. Під час тестування тварину спочатку поміщали в освітлену білу частину і фіксували час, через який вона переходила у темну, а також кількість виглядувань з нірки та (якщо спостерігали) кількість і тривалість виходів з неї. Тривалість спроби для кожної тварини становила 3 хв.

Результати обробляли у програмі Statistica 12 за допомогою мультифакторного тесту ANOVA та ANOVA для повторних вимірювань. У всіх випадках достовірними вважали відмінності між групами при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Водний тест (лабіринт) Морріса дає змогу проводити ефективне дослідження просторової пам'яті, орієнтування та здатності до навчання лабораторних гризунів [17]. Одним з показників, які фіксували за допомогою даного тесту, був стан короткочасної пам'яті дослідних тварин. Визначали його за різницею часу, затраченого на знаходження твариною острівка-платформи у першій та другій спробах. У тварин, які зазнавали впливу низьких доз ХПФ, виявлена тенденція до погіршення короткочасної пам'яті: тривалість виконання тесту у другій спробі не зменшувалась, ефективного навчання не відбувалося. Деякі тварини, навпаки, у другій спробі затрачали більше часу для знаходження платформи, ніж у першій, що свідчить про погіршення короткотривалої пам'яті.

Іншим важливим показником, що досліджувався за допомогою тесту Морріса, був стан довготривалої просторової пам'яті. За нормального функціонування механізмів просторової пам'яті та орієнтації час, необхідний для знаходження платформи, з кожним наступним поміщенням тварини у басейн скорочується, що свідчить про навчання та запам'ятовування місцезнаходження

платформи за розташуванням орієнтирів. При порушеннях механізмів пам'яті (наприклад, за впливу хімічних речовин на гіпокамп чи ураженні його внаслідок травми або хвороби [18-20]) просторова пам'ять порушується, і час, потрібний на знаходження платформи, не зменшується з наступними повторами тестування, чи навіть навпаки – збільшується в міру прогресування ураження пам'яті, а поведінка тварин, їх траєкторія у басейні стає хаотичнішою [21]. За загальним часом, затраченим для знаходження платформи у різних спробах, статистично достовірних відмінностей між групами не виявлено, однак у 2-й групі спостерігали тенденцію до його зростання. При порушеннях функціонування просторової пам'яті часто трапляється, що тварина взагалі не може знайти платформу за 3 хв. Тому ми взяли до уваги такий показник, як відсоток вдалих спроб – відносна частка тварин у кожній групі, які змогли відшукати платформу за відведений час. За цим показником істотне порушення також було виявлене у 2-й групі, де спостерігали статистично вірогідне зниження відсотка вдалих спроб (таблиця).

Отже, тривале введення низьких доз ХПФ чинить негативний вплив на механізми просторової пам'яті та спричиняє порушення як короткочасної, так і довготривалої пам'яті у самиць щурів, які одержували ХПФ у дозі 10 мг/кг. Це корелює з літературними даними [4, 11-13], згідно з якими одним з основних негативних наслідків впливу ХПФ на нервову систему є погіршення пам'яті.

Тест темно-світла камера використовується у вивченні впливу різноманітних факторів на функціональний стан нервової системи, зокрема на рівень тривожності та активності дослідницької поведінки, та базується на інстинктивному прагненні гризунів шукати сховок у затемнених закритих місцях, уникаючи відкритих та яскраво освітлених просторів [15, 22, 23]. Тестування тварин у темно-світлій камері протягом дослідного періоду було проведено тричі з інтервалом у 10 діб (для збереження ефекту новизни).

Тривалість перебування тварин у світлій частині до переходу в темну залежала від групи і була найбільшою у контролі та мінімальною у 2-й групі (рис. 1, а). Вона зменшувалася у прямій залежності від дози ХПФ, яку отримували тварини. Кількість виглядувань тварин з нірки також залежала від групи і була мінімальною в контролі та зростала у 1-й і 2-й групах (див. рис. 1, б).

Математичний показник суми тривалості перебування у світлій частині та кількості виглядувань (показник загальної тривожності та дослідницької активності) статистично достовірно залежав від групи. Щодо кількості випадків зворотного переходу тварини у світлу частину камери, то за цим показником відмінностей між групами виявлено не було. Збільшення тривалості перебування у світлій частині, зростання кількості виглядувань та повертань у світлу частину з темної може свідчити про зниження тривожності тварини та зростання потягу до дослідження нових територій (неофілія). Найзначніші зміни

Частка вдалих спроб (випадків знаходження твариною платформи протягом 3 хв тестування) у тесті Морріса

Група тварин	Частка вдалих спроб, %							
	1-ша доба		11-та доба		17-та доба		21-ша доба	
	Перша спроба	Друга спроба	Перша спроба	Друга спроба	Перша спроба	Друга спроба	Перша спроба	Друга спроба
Контроль	80	80	80	80	100	100	100	100
1-ша	100	70	100	100	70	100	100	100
2-га	40*	100	60*	80	80	100	80	80

Вказано доби від початку введення хлорпірифосу. *P<0,05 порівняно з контролем.

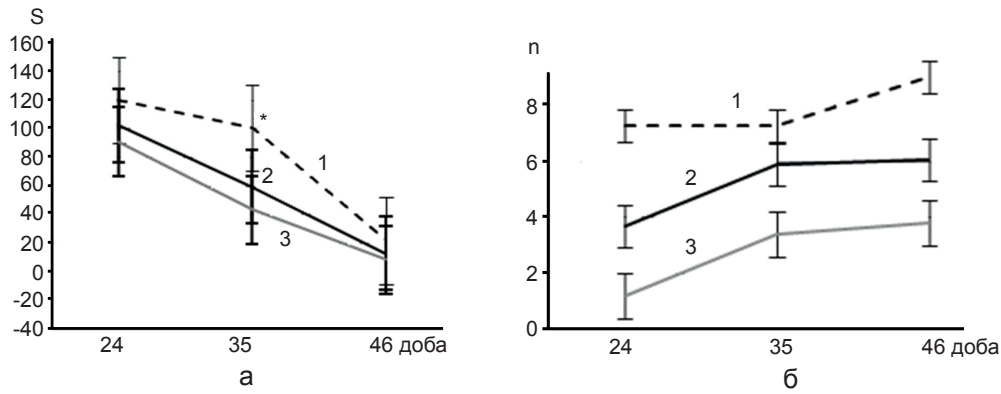


Рис. 1. Результати тестування шурів за методикою темно-світла камера: а – тривалість перебування у світлій частині камери; б – кількість виглядувань з нірки. 1 – контроль, 2 – 1-ша, 3 – 2-га група. Доби вказані від початку введення хлорпірифосу. * $P < 0,05$ порівняно з контролем.

цих показників спостерігали у 2-й групі. Одержані результати доволі важко інтерпретувати однозначно, оскільки залишається дискусійним питання про залежність вказаних поведінкових показників саме від тривожності або від інших факторів, наприклад, від загальної рухової активності тварин.

В основі тесту відкрите поле [16] лежить природний потяг тварин до дослідження нової території та відмінності його інтенсивності у тварин з різним рівнем емоційності [24, 25]. У цьому тесті визначаються показники дослідницької активності (горизонтальна та вертикальна активність) та тривожності (довгий та короткий грумінг, дефекація).

За горизонтальною (зовнішньою та внутрішньою) (рис.2, а, б) і вертикальною активністю (див. рис.2, в) статистично достовірних відмінностей між групами виявлено не було.

Кількість актів довгого грумінгу на початку тестування (перша доба після введення токсину) в обох дослідних групах статистично вірогідно була вищою, ніж у контролі (у контрольній групі вона була відносно стабільною протягом усього періоду дослідження), однак з часом показники дослідних і контрольної груп практично зрівнялися (див. рис.2, г). Ці зміни можна пояснити гострим впливом ХПФ на організм тварин одразу після введення та поступовою адаптацією організму до постійного надходження низьких доз ХПФ.

За кількістю актів короткого грумінгу (див. рис 2, д) спостерігали аналогічну тенденцію у 1-й групі: вона була достовірно вищою у першу добу після початку введення ХПФ та поступово знизилася до рівня контрольної групи. Однак, на відміну від довгого грумінгу, кількість актів короткого у 2-й групі, як і у контролі, залишалася відносно стабільною.

Інтенсивність дефекації (див. рис. 2, е) також відрізнялася за групами: кількість актів дефекації у 1-й групі була вірогідно вищою за контроль у першу добу після початку введення препарату, а згодом спадала; у 2-й групі – навпаки, була мінімальною у першу добу та поступово зростала до рівня контролю. Отже, можна говорити про поступову адаптацію організму шурів до тривалого введення ХПФ. Кількість актів дефекації у всіх трьох групах знизилася на 9-ту добу введення, однак це зниження не було залежним від групи і могло бути зумовлене іншими факторами.

За результатами двох тестів, спрямованих на дослідження емоційності (відкрите поле та темно-світла камера), спостерігалася загальна тенденція до змін показників емоційності та тривожності у шурів, які отримували ХПФ порівняно з контрольною групою; однак вона не була чітко залежною від дози. У тесті відкрите поле тривожність тварин переважно зростала на самому початку введення

препарату, але поступово нормалізувалася. У тесті темно-світла камера показники, які прийнято вважати індикаторами рівня тривожності шурів, знижувалися. Ці результати перегукуються з низкою літературних даних:

у деяких роботах вплив ХПФ призводив до зниження показників тривожності тварин [8], а в деяких дослідженнях [9], навпаки, тривожність шурів зростала.

Отже, низькі дози ХПФ, які умовно

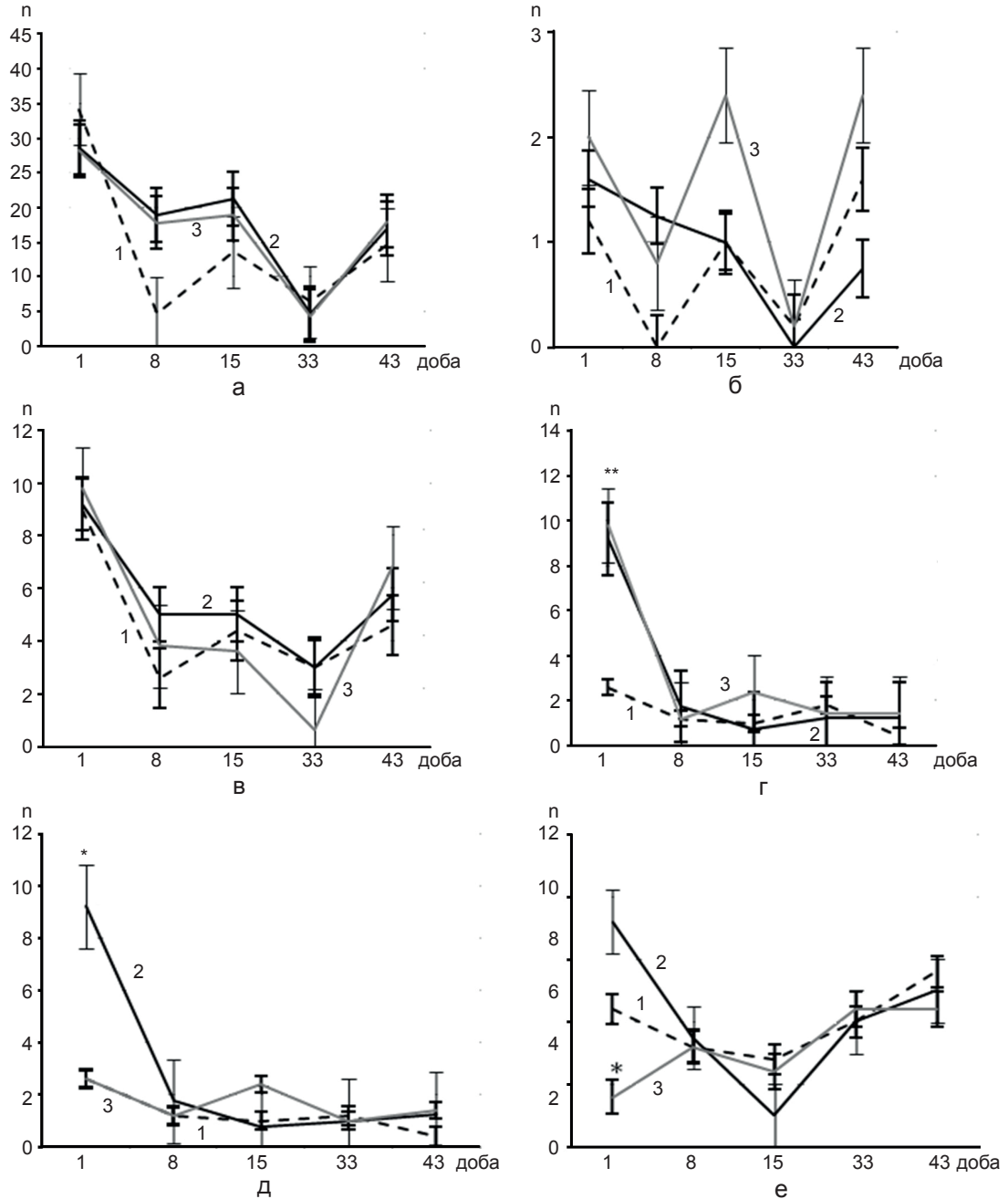


Рис. 2. Результати тестування шурів за методом відкрите поле: а – зовнішня горизонтальна рухова активність; б – внутрішня горизонтальна рухова активність; в – вертикальна рухова активність; г – довгий грумінг; д – короткий грумінг; е – дефекація. 1 – контроль, 2 – 1-ша, 3 – 2-га група. Доби вказані від початку введення хлорпірифосу.

* $P < 0,05$ порівняно з контролем, ** $P < 0,001$.

вважаються безпечними, при хронічному впливові можуть негативно впливати на функціональний стан ЦНС.

С.В. Грабовская, Ю.Т. Салыга

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НИЗКИМИ ДОЗАМИ ХЛОРПИРИФОСА НА ПОВЕДЕНИЕ САМОК КРЫС

В работе исследовали влияние длительного введения низких доз хлорпирифоса на поведение самок лабораторных крыс. Животным ежедневно в течение месяца вводили хлорпирифос в дозах 5 и 10 мг/кг и изучали его влияние на ряд важных поведенческих показателей с помощью тестов: водный лабиринт Морриса, открытое поле и темно-светлая камера. Было обнаружено, что хлорпирифос в дозе 10 мг/кг ухудшает кратко- и долговременную пространственную память, снижает общую активность, вызывает резкие колебания уровня тревожности (она значительно возрастала в начале введения ксенобиотика и со временем нормализовалась). Аналогичные тенденции, но менее выраженные, наблюдали в группе, получавшей токсическое соединение в дозе 5 мг/кг. Результаты исследования позволяют сделать вывод, что длительное (30 сут) поступление в организм самок крыс малых доз хлорпирифоса оказывает негативное влияние на функциональное состояние их нервной системы. Ключевые слова: хлорпирифос; фосфорорганические соединения; крысы; поведение; память; открытое поле; водный лабиринт Морриса; темно-светлая камера.

S.V. Grabovska, Y.T. Salyha

THE EFFECT OF CHRONIC INTOXICATION WITH LOW DOSES OF CHLORPYRIFOS ON THE BEHAVIORAL PARAMETERS OF FEMALE RATS

We explored the effect of chronic chlorpyrifos intake on the behavior of female laboratory rats. The animals were exposed to chlorpyrifos in doses 5 and 10 mg/kg daily for a month long and tested with behavioral tests: Morris water maze, Open field test, and Dark/light box. Everyday chlorpyrifos intake in dose 10 mg/kg was revealed to cause long- and short-term spatial memory lesion, decrease in total activity, sharp changes in the level of anxiety (it significantly increased at the start of xenobiotic intake, and then normalized with time). Similar trends, though less intense, were observed in the group exposed to 5 mg/kg chlorpyrifos. From the survey results it can be concluded that long-term (30 days long) intake of even low doses of chlorpyrifos can cause adverse effects on the functional state of nervous system.

Keywords: chlorpyrifos; organophosphates; rats; behavior; memory; Open field; Morris water maze; Light/Dark box.

Institute of Animal Biology National Academy of Agrarian Science of Ukraine, Lviv;

REFERENCES

1. Salyha Y. Biological effects assessment of chlorpyrifos and some aspects of its neurotoxicity. *Visnyk of Lviv University. Biology series.* 2010; 54:3–14.
2. Salyha Y. Chlorpyrifos leads to oxidative stress-induced death of hippocampal cells in vitro. *Neurophysiology.* 2013; 45(3):193-9.
3. Slotkin TA, Seidler FJ. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphates in vivo: transcriptional responses of pathways for brain cell development, cell signaling, cytotoxicity and neurotransmitter systems. *Brain Res Bull.* 2007; 72(4/6):232-74.
4. Rauh V, Arunajadai S, Horton M, Perera F, Hoepner L, Barr DB, Whyatt R. Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. *Environ Health Perspect.* 2011; 8(119):1196-201.
5. Brown TP, Rumsby PC, Capleton AC, Rushton L, Levy LS. Pesticides and parkinson's disease – is there a link? *Environ Health Perspect.* 2006; 2(114):156–64.
6. Shelton JF, Hertz-Picciotto I, Pessah IN. Tipping the balance of autism risk: potential mechanisms linking pesticides and autism. *Environ Health Perspect.* 2012; 7(120):944–51.
7. Richendrfer H, Pelkowski SD, Colwill RM, Créton R. Developmental sub-chronic exposure to chlorpyrifos reduces anxiety-related behavior in zebrafish larvae. *Neurotoxicol Teratol.* 2012; 4(34):458-65.
8. Ricceri L, Venerosi A, Capone F, Cometa MF, Lorenzini P, Fortuna S, Calamandrei G. Developmental neurotoxicity of organophosphorous pesticides: fetal and neonatal exposure to chlorpyrifos alters sex-specific behaviors at adulthood in mice. *Toxicol Sci.* 2006; 1(93):105-13.
9. Braquenier JB, Quertemont E, Tirelli E, Plumier JC. Anxiety in adult female mice following perinatal exposure to chlorpyrifos. *Neurotoxicol Teratol.* 2010; 2(32):234-9.
10. Mullen BR, Khialeeva E, Hoffman DB. Decreased reelin expression and organophosphate pesticide exposure alters mouse behavior and brain morphology. *ASN Neuro.* 2013; 5(1):27-42.
11. Aldridge JE, Levin ED, Seidler FJ, Slotkin TA. Developmental exposure of rats to chlorpyrifos leads to behavioral alterations in adulthood, involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression. *Environ Health Perspect.* 2005; 5(113):527-531.
12. Terry AV Jr, Beck W, Warner S, Vandenhuerk L., Callahan PM. Chronic impairments in spatial learning and memory in rats previously exposed to chlorpyrifos or diisopropyl-fluorophosphate. *Neurotoxicol Teratol.* 2012; 1(34):1-8.
13. Yan C, Jiao L, Zhao J, Yang H, Peng S. Repeated exposures to chlorpyrifos lead to spatial memory retrieval impairment and motor activity alteration. *Neurotoxicol Teratol.* 2012; 4(34):442-9.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes. Coun. of Europe, Strasbourg; 1986.
15. Bourin M., Hascoe M. The mouse light/dark box test. *Eur*

- J Pharmacol. 2003; 463:55-65.
16. Hall CS, Ballachey EL. 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.
 17. Morris RGM, Garrud P, Rawlins PNJ, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. Nature. 1982; 297:681-3.
 18. Acharjee S, Nayani N, Tsutsui M, Hill MN, Ousman SS, Pittman QJ. Altered cognitive-emotional behavior in early experimental autoimmune encephalitis. Cytokine and hormonal correlates. Brain Behav. Immun. 2013 Oct; 33:164-72.
 19. Liu CL, Chen H, Jiang Y, Tu PF, Zhong M, Ma J., Ding H., Zhang WX, Jin XM. Effects of echinacoside on extracellular acetylcholine and choline levels of hippocampus and striatum of cerebral ischemia rats. Yao Xue Xue Bao. 2013; 5(48):790-3.
 20. Zheng SQ, An LX, Cheng X, Wang YJ. Sevoflurane causes neuronal apoptosis and adaptability changes of neonatal rats. Acta Anaesthesiol Scand. 2013; 57(9):1167-1174.
 21. Davis S, Butcher SP, Morris RG. The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro. J Neurosci. 1992; 1(12):21-34.
 22. Chaouloff F, Durand M, Mormède P. Anxiety- and activity-related effects of diazepam and chlordiazepoxide in the rat light/dark and dark/light tests. Behav Brain Res. 1997; 1(85):27-35.
 23. Heijtz RD., Wang Sh, Anuard F, Qiana Y, Björkholm B, Samuelsson A, Hibberc M L, Forssberg H, Pettersson S. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. Rochellys Diaz Heijtz. 2011; 108(7):3047-52.
 24. Kasimova SK. Anxiety-like behavior in rats and its dependency on the lighting mode. Mod probl sci ed. 2006; 2:45-7.
 25. Grabovskaya SV, Salyha YT. Do Results of the Open Field Test Depend on the Arena Shape? Neurophysiology. 2014; 46 (4):376-80.

Матеріал надійшов до редакції 05.11.2013