

Различия в поведении мышей двух линий C57Bl/6 и BALB/c в тесте открытого поля на фоне введения прегабалина

В.А. Кашкин, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, ORCID 0000-0002-7202-0233

АО НПО «Дом Фармации»,

188663, Россия, Ленинградская область, Всеволожский район, городской поселок Кузьмоловский,

ул. Заводская, дом 3, корпус 245

E-mail: kashkinv@gmail.com

Резюме. Цель исследования – оценка поведения мышей – 2 линий C57Bl/6 и BALB/c в тесте открытого поля, а также влияния препарата с доказанной анксиолитической активностью Лирика® (МНН: прегабалин) в условиях теста. В эксперименте использовали 20 самцов мышей линии C57Bl/6 и 20 самцов мышей BALB/c массой тела 20–25 г. Прегабалин вводили в течение 14 дней в дозе 10 мг/кг внутривентрикулярно в виде предварительно приготовленной суспензии в 1% растворе крахмала. Контрольные животные получали носитель в объеме, соответствующем объему введенного препарата. Тест открытого поля проводили на 14-й день введения (через 1 ч после применения прегабалина и контрольного вещества), длительность тестирования для каждого животного составила 5 мин. Ориентировочно-исследовательскую активность животных оценивали по ряду элементарных двигательных актов и поз, совокупность которых характеризует целостное поведение при тестировании в установке «открытое поле». Оценены следующие показатели: количество пересеченных квадратов на периферии, заходов в центральный квадрат, число пристеночных и свободных стоек, заглядываний в норки, количество меток уринаций и болюсов. Анализ полученных результатов показал, что у мышей линии C57Bl/6 с преобладанием активного типа поведения препарат «Лирика®» (МНН: прегабалин) при 14-дневном введении оказывает слабое анксиолитическое действие. Напротив, у мышей линии BALB/c с преобладанием пассивного типа поведения курсовое введение прегабалина давало выраженный противотревожный эффект, который характеризовался усилением локомоторной активности и исследовательской активности в тесте открытого поля. Полученные на двух различных по поведенческому фенотипу (реакция на стресс) линиях мышей результаты могут способствовать выявлению генетических и биологических основ стратегий преодоления стресса у людей. В перспективе такие данные дают возможность более персонализировано подходить к терапии невротических синдромов у пациентов с депрессивноподобным поведением..

Ключевые слова: BALB/c, C57Bl/6, прегабалин, тест открытого поля, поведение.

Для цитирования: Кашкин В.А. Различия в поведении мышей двух линий C57Bl/6 и BALB/c в тесте открытого поля на фоне введения прегабалина. *Лабораторные животные для научных исследований.* 2020; 04: 86–95. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2020-04-09>

Differences in the behavior of two line C57Bl /6 and BALB/C mice in the «open field» test in the background of pregabalin

V. Kashkin, ORCID 0000-0002-7202-0233

Research-and-manufacturing company «Home of Pharmacy»,

3, bild. 245, Zavodskaya St., Kuzmolovskiy, Vsevolzhskiy district, Leningrad region, 188663, Russia

E-mail: kashkinv@gmail.com

Summary. The aim of this study was to evaluate the behavior of mice of two inbred strains C57Bl/6 and BALB/c in the "open field" test, as well as the effect of the drug with anxiolytic activity Lyrica® (INN: pregabalin) on their behavior under test conditions. The experiment used 20 male mice of the strain C57Bl and 20 male mice of the strain BALB/c. Pregabalin was administered intragastrically during 14 days in dose 10 mg/kg. Control animals received vehicle in a volume corresponding to the volume of drug administration. The "open field" test was performed on the 14th day of administration (1 hour after the administration of pregabalin and the vehicle); the duration of testing for each animal was 5 minutes. The approximate research activity of the animals was assessed by a number of elementary motor acts and postures, the totality of which characterizes integral behavior during testing in the «open field» test. The following indicators were including: the number of crossed squares in the periphery; the number of central squares entries; the number of rearing; the number of nose-poke; the number of urination and defecation. The analysis of the obtained results showed that in C57Bl/6 mice with a predominance of the active type of behavior, the drug «Lyrica®», when administered for 14 days, had a weak anxiolytic effect, which was of a sedative feature. In contrast, in BALB/c mice with a predominantly passive type of behavior, course administration of pregabalin had a pronounced anti-anxiety effect, which was characterized by an increase in active behavior and exploratory activity responses to novelty or anxiogenic environment in the test. The results obtained in two inbred strains of mice with different behavioral phenotypes (response to stress) may help to identify the genetic and biological bases of strategies for coping with stress in humans. In the future, such

data may contribute to a more personalized approach to the treatment of neurotic syndromes in patients with depressive-like behavior.

Key words: open field, BALB/c, C57Bl/6, pregabalin, behavior.

For citation: Kashkin V. Differences in the behavior of two line C57Bl/6 and BALB /C mice in the «open field» test in the background of pregabalin. *Laboratory Animals for Science*. 2020; 03: с 3–6. <https://doi.org/10/29926/2618723X-2020-03-01>

Введение

Экспериментальные тесты для определения уровня тревожности моделируют конфликтные ситуации, в которых определенная мотивация принуждает животное продемонстрировать опасное с биологической точки зрения поведение. Тест открытого поля – один из самых распространенных инструментов, используемых в психофармакологии для изучения влияния веществ на ориентировочно-исследовательское поведение, двигательную активность и для выявления анксиолитического действия лекарственных кандидатов [1]. Однако без учета характера эмоционально-стрессовой реакции животных в условиях этого теста анксиолитическое действие может отчетливо не выявляться [2]. В противоположность этому оценка противотревожных веществ с использованием фармакогенетического подхода позволяет выявить специфический анксиолитический эффект препарата на разных линиях мышей в зависимости от типа их эмоционально-стрессовой реакции [3]. Так, у мышей линии C57Bl/6] обычно отмечается активный тип реакции на эмоционально-стрессовое воздействие, а линии BALB/c, наоборот, пассивный тип поведения. Анксиолитики оказывают отчетливое действие у животных с пассивным типом поведения, которое выражается в устранении состояния замирания (freezing), страха и в активации поведения. В противоположность этому у мышей с активным типом поведения (C57Bl/6]) транквилизаторы вызывают седативный эффект [4].

Цель исследования – оценка влияния препарата с доказанной анксиолитической активностью Лирика® (МНН: прегабалин) на поведение мышей линии C57Bl/6 и BALB/c в тесте открытого поля. Прегабалин является высокоаффинным модулятором потенциально-зависимых кальциевых каналов $\alpha 2\delta$ -типа [5], препарат продемонстрировал противотревожное действие на моделях конфликтной ситуации Геллера–Сейфтера, в приподнятом крестообразном лабиринте [6] и на экспериментальной модели посттравматического стресса [7].

Материал и методы

Препараты

Препарат Лирика® (МНН: прегабалин) (Pfaizer Inc, США) вводили животным внутривенно в течение 14 дней в дозе 10 мг/кг в виде приготовленной непосредственно перед введением суспензии в 1% растворе крахмала. Контрольные животные получали 1% раствор крахмала в объеме, соответствующем объему введенного препарата – 1 мл/кг.

Животные и условия их содержания

В эксперименте использовали самцов мышей линии C57Bl/6 (n=20) и BALB/c (n=20) массой тела 20–25 г (питомник АО НПО «Дом Фармации», Россия). Животных содержали группами по 10 особей в клетке в стандартных условиях: фото-режим 12 ч свет/12 ч темнота, температура воздуха 19–25°C, влажность 50 ± 20% при свободном доступе к очищенной воде (AquaPhor®, Санкт-Петербург, Россия) и стандартному корму (ПК-120-1, приготовленный по ГОСТу Р50258-92). Научно-исследовательская работа выполнена в соответствии с рекомендациями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. По завершении эксперимента животных подвергли эвтаназии, используя CO₂.

Тест открытого поля

Экспериментальная установка

Установка «открытое поле» состояла из камеры размером 40×40×20 см с прозрачной крышкой. Пол камеры был равномерно разделен линиями на 9 квадратов с 4 отверстиями (норками) диаметром 2 см.

Экспериментальная процедура

Прегабалин вводили внутривенно, однократно в течение 14 дней, за 1 ч до проведения теста.

Тестирование выполняли при обычном освещении с интенсивностью светового потока в 300 лк. Эксперимент начинали с помещения животного на один из периферийных квадратов открытого поля. Длительность теста 5 мин. По исте-

Таблица 1.
Оценка поведенческой реакции самцов мышей линии C57Bl/6 в тесте открытого поля на 14-й день ежедневного введения растворителя или прегабалина ($M \pm SEM$)

| Группа | Количество пересеченных квадратов | Количество заглядываний в норки |
|--|-----------------------------------|---------------------------------|
| Контрольная (1% раствор крахмала), $n = 10$ | 28,1 \pm 3,0 | 19,6 \pm 3,2 |
| Экспериментальная (прегабалин, 10 мг/кг), $n = 10$ | 31,3 \pm 6,8 | 20,3 \pm 3,1 |

Таблица 2.
Оценка поведенческой реакции самцов мышей линии C57Bl/6 в тесте открытого поля на 14-й день ежедневного введения растворителя или прегабалина (*общая сумма*)

| Показатель | ЧСС в 1 мин | Ударный объем сердца, мл | Артериальное давление, мм рт. ст. |
|------------------|-------------|--------------------------|-----------------------------------|
| Базовая величина | 104 | 21 | 145/105 |
| После атропина | 180 | 13 | 135/115 |
| Анестезия 30 мин | 145 | 12 | 90/65 |
| Анестезия 60 мин | 140 | 12 | 90/60 |
| Анестезия 80 мин | 135 | 13 | 90/60 |

чении времени наблюдения животное извлекали из установки и помещали в домашнюю клетку.

Оценивали количество:

- пересеченных квадратов на периферии;
- заходов в центральный квадрат;
- пристеночных и свободных стоек;
- эпизодов груминга;
- заглядываний в норки;
- меток уринаций и фекальных болюсов.

Статистический анализ данных

Обработку полученных данных проводили с помощью пакета статистических программ SAS (SAS v.9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, США). Парное сравнение осуществляли с использованием t -теста (в случае нормально распределенных данных) и теста Манна–Уитни (в случае если распределение данных не соответствовало нормальному). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Оценка поведенческих реакций мышей линии C57Bl/6 в тесте открытого поля

На 14-й день введения прегабалина проведена оценка поведения мышей линии C57Bl/6 в тесте открытого поля, по результатам которой не установлено влияние препарата на такие показатели поведенческой активности животных, как количество пересеченных квадратов и заглядываний в норки ($p > 0,05$; t -тест, табл. 1), при этом обнаружено значимое снижение количества пристеночных стоек ($p < 0,05$; тест Манна–Уитни, табл. 2) по сравнению с показателями в контрольной группе.

Оценка поведенческих реакций в тесте открытого поля мышей линии BALB/c

Оценка поведения мышей линии BALB/c после 14-дневного введения прегабалина в тесте открытого поля выявила значимое увеличение количества пересеченных квадратов ($p = 0,001$; t -тест, табл. 3) и заходов в центральный квадрат ($p < 0,05$; тест Манна–Уитни, табл. 4) экспериментальных животных по сравнению с показателями в контрольной группе.

Таким образом, по результатам тестирования 14-дневное введение препарата Лирика® (МНН: прегабалин) мышам линии C57Bl/6 с преобладанием активного типа поведения оказало слабое анксиолитическое действие, которое имело седативный характер у данной линии мышей. Напротив, у мышей линии BALB/c с превалированием пассивного типа поведения после курсового (в течение 14 дней) введения наблюдалось выраженное противотревожное действие прегабалина, которое характеризовалось усилением активного поведения и исследовательской активности в тесте открытого поля.

Обсуждение

Выбор линии животных, используемых в исследованиях по изучению тревожности, является важным этапом экспериментального планирования. Хорошо известно, что результаты поведенческих экспериментов могут сильно различаться не только в зависимости от условий проведения тестирования, но также и в зависимости от используемой линии лабораторных животных [8, 9]. Так, особенностью мышей C57Bl/6 по сравнению с мышами других линий является пониженный уровень тревожности [4, 10, 11]. Напротив, было

Таблица 3.

Оценка поведенческой реакции самцов мышей линии BALB/c в тесте открытого поля на 14-й день ежедневного введения прегабалина ($M \pm SEM$)

| Группа | Количество пересеченных квадратов | Количество заглядываний в норки |
|--|-----------------------------------|---------------------------------|
| Контрольная (1% раствор крахмала), $n = 10$ | 19,2±2,4 | 15,9±2,2 |
| Экспериментальная (прегабалин, 10 мг/кг), $n = 10$ | 37,3±2,5* | 20,4±2,3 |

Примечание. * $p < 0,05$, статистически значимое различие по сравнению с контрольной группой (t-тест).

Таблица 4.

Оценка поведенческой реакции самцов мышей линии BALB/c в тесте открытого поля на 14-й день ежедневного введения растворителя или прегабалина (общая сумма)

| Группа | Число заходов в центральной квадрат | Число пристеночных стоек | Число свободных стоек | Число груминга | Число мочевых точек | Число болюсов |
|--|-------------------------------------|--------------------------|-----------------------|----------------|---------------------|---------------|
| Контрольная (1% раствор крахмала), $n = 10$ | 14 | 23 | 6 | 13 | 1 | 8 |
| Экспериментальная (прегабалин, 10 мг/кг), $n = 10$ | 30* | 36 | 3 | 10 | 0 | 4 |

показано, что мыши линии BALB/c показывают более выраженную поведенческую реакцию в ответ на эмоциональный стресс, чем линии C57Bl/6 [12]. Поэтому фармакологические эффекты даже «классических» анксиолитиков могут довольно сильно различаться при их тестировании на различных линиях мышей. Например, введение неселективного бензодиазепаина хлордиазепоксида не вызывало анксиолитического действия у мышей линии C57Bl/6 в O-образном лабиринте [13] и тесте открытого поля [14]. Однако введение пикротоксина, блокатора хлорных каналов, связанных с ГАМК-А рецепторами, привело к возникновению анксиогенного эффекта [14]. Причины получения различных результатов в данных поведенческих тестах, вероятно, обусловлены межлинейной вариабельностью функциональной активности нейротрансмиттерных систем.

Показано, что фенотипические различия в поведении коррелируют с уровнем активации норадренергической системы в гипоталамусе [15]. Так, уровень норадренергической активности у мышей C57Bl/6 выше, чем у пассивных животных линии BALB/c. Эмоциональный стресс, который испытывают животные в тесте открытого поля, приводит к уменьшению активности норадренергической системы в гипоталамусе у мышей обеих линий (BALB/c и C57Bl/6). Однако наряду с этим у мышей C57Bl/6 с активным типом поведения в тесте открытого поля в гипоталамусе снижен уровень серотонина и его метаболита 5-HIAA в отличие от мышей с реакцией замиранья (пассивные мыши линии BALB/c), у которых наблюдается увеличение содержания ГАМК после реакции эмоционального стресса. Также у активных мышей в стриатуме (полосатое тело) головного мозга повышено соотно-

шение DOPA/DA, что указывает на усиление использования дофамина у высокоактивных животных. Напротив, у мышей линии BALB/c не наблюдается изменений уровня дофамина в структурах головного мозга, что может быть истолковано как отсутствие вовлеченности или даже снижение активности дофаминергической системы [16].

Таким образом, эмоциональный стресс, вызванный проведением теста открытого поля, у мышей различных фенотипов связан с изменениями функциональной активности нескольких нейротрансмиттерных систем (ГАМКергических, дофаминергической, серотонинергической и др.) [17].

В проведенном исследовании слабое проявление противотревожных свойств препарата прегабалин (Лирика®) у линии мышей с активным типом поведения (линия C57Bl/6) обусловлено фармакологическим профилем прегабалина. Прегабалин является блокатором альфа-2/дельта-1 Q/R-подтипа кальциевых каналов и, помимо прочего, уменьшает выход возбуждающей аминокислоты глутамата в различных структурах головного мозга [18, 19]. Из работы S.V. Seredenina [20] известно, что у животных с выраженной реакцией страха на воздействие эмоционального стресса (линия BALB/c), вызванного тестом открытого поля, происходит снижение содержания глутамата в стриатуме, тогда как у активных животных (линия C57Bl/6) уровень глутамата повышается [15]. Поэтому введение прегабалина, возможно, уменьшает повышенный уровень возбуждающей аминокислоты глутамата, что приводит большинство показателей мышей с активным поведением к физиологическим нормам интактных животных.

Все это говорит о большой вариабельности получаемых данных в тесте открытого поля. Результаты зависят от множества причин, среди которых не только конкретная линия мышей, но также сток и питомник, из которого получены животные. Влияние на результаты поведенческих экспериментов могут оказывать такие факторы, как материал, из которого изготовлена установка «открытое поле», освещение (крайне важно!), ольфакторные сигналы, обстановочные стимулы помещения, где проводят тестирование и др. Из этого следует, что данные, полученные в разных лабораториях, могут сильно варьировать в зависимости от сочетания всех вышеупомянутых факторов. Ранее был дан пример того, что даже «классические» транквилизаторы могут не оказывать влияние на поведение животных в тесте открытого поля.

Изменение уровня вертикальной активности может рассматриваться как маркер анксиолитической или анксиогенной активности препаратов в тесте открытого поля. Напротив, широкоиспользуемый маркер анксиолитической активности (продолжительность нахождения в центральных квадратах) нечувствителен к действию «классических» транквилизаторов, которые при этом могут снижать вертикальную активность (rearing), что ряд авторов интерпретируют как анксиолитическая активность [21]. Именно поэтому полученные результаты в плане эффективности прегабалина были оценены как слабо выраженные, т.е. не исключаящие наличия у данного препарата противотревожного действия.

Немаловажным становится и тот факт, что полученные на двух различных по поведенческому фенотипу (реакция на стресс) линиях мышей результаты могут также способствовать выявлению генетических и биологических основ стратегий преодоления стресса у людей, в том числе так называемые ориентированные на проблемы и эмоции [22]. В перспективе такие данные могут помочь более персонализировано подходить к терапии невротических синдромов у пациентов с депрессивноподобным поведением.

Заключение

Таким образом, в результате настоящего исследования был подтвержден факт того, что проведение тестирования анксиолитической активности лекарственных кандидатов должно учитывать поведенческий фенотип, характерный для определенной линии животных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература:

Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / под ред. Миронов А. Н. – 2012. – М. Гриф и К, 944 с [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya. / pod red. Mironov A. N. – 2012. – M. Grif i K, 944 p. (In Russ.)].

Lalonde R., Strazielle C. Relations between open-field, elevated plus-maze, and emergence tests in C57BL/6J and BALB/c mice injected with GABA- and 5HT-anxiolytic agents // *Fundam Clin Pharmacol.* – 2010. – V. 24, No 3. – P. 365-76. <http://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2009.00772.x>

Середенин С. Б., Ведерников А. А. Влияние психотропных препаратов на поведение линейных мышей в условиях эмоционального стресса // *Бюлл. exper. биол. и мед.* 1979. – Т. 88, № 7. – С. 38-40.

Tang X., Xiao J., Parris B. S., Fang J., Sanford L. D. Differential effects of two types of environmental novelty on activity and sleep in BALB/cJ and C57BL/6J mice // *Physiology & Behavior.* – 2005. – V. 85, No 4. – P. 419-429. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.05.008>

Belliotti T. R., Capiris T., Ekhato I. V., Kinsora J. J., Field M. J., Heffner T. G., Meltzer L. T., Schwarz J. B., Taylor C. P., Thorpe A. J., Vartanian M. G., Wise L. D., Zhi-Su T., Weber M. L., Wustrow D. J. Structure-activity relationships of pregabalin and analogues that target the alpha(2)-delta protein // *J Med Chem.* – 2005. – V. 48, No 7. – P. 2294-307. <http://doi.org/10.1021/jm049762l>

Field M. J., Oles R. J., Singh L. Pregabalin may represent a novel class of anxiolytic agents with a broad spectrum of activity // *British Journal of Pharmacology.* – 2001. – V. 132, No 1. – P. 1-4. <http://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703794>

Zohar J., Matar M. A., Ifergane G., Kaplan Z., Cohen H. Brief post-stressor treatment with pregabalin in an animal model for PTSD: short-term anxiolytic effects without long-term anxiogenic effect // *Eur Neuropsychopharmacol.* – 2008. – V. 18, No 9. – P. 653-66. <http://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.04.009>

1. van Meer P., Raber J. Mouse behavioural analysis in systems biology // *Biochemical Journal.* – 2005. – V. 389, No 3. – P. 593-610. <http://doi.org/10.1042/bj20042023>

Post A. M., Weyers P., Holzer P., Painsipp E., Pauli P., Wultsch T., Reif A., Lesch K.-P. Gene-environment interaction influences anxiety-like behavior in ethologically based mouse models // *Behavioural Brain Research.* – 2011. – V. 218, No 1. – P. 99-105. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.11.031>

Crawley J. N. Unusual behavioral phenotypes of inbred mouse strains // *Trends in Neurosciences.* – 1996. – V. 19,

No 5. – P. 181-182. [http://doi.org/10.1016/S0166-2236\(96\)20021-9](http://doi.org/10.1016/S0166-2236(96)20021-9)

2. Crawley J. N., Belknap J. K., Collins A., Crabbe J. C., Frankel W., Henderson N., Hitzemann R. J., Maxson S. C., Miner L. L., Silva A. J., Wehner J. M., Wynshaw-Boris A., Paylor R. Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies // *Psychopharmacology*. – 1997. – V. 132, No 2. – P. 107-124. <http://doi.org/10.1007/s002130050327>

3. Tannenbaum B., Anisman H. Impact of chronic intermittent challenges in stressor-susceptible and resilient strains of mice // *Biol Psychiatry*. – 2003. – V. 53, No 4. – P. 292-303.

4. Heredia L., Torrente M., Colomina M. T., Domingo J. L. Assessing anxiety in C57BL/6J mice: A pharmacological characterization of the zero maze test // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2013. – V. 68, No 2. – P. 275-283. <http://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.02.010>

5. Heredia L., Torrente M., Colomina M. T., Domingo J. L. Assessing anxiety in C57BL/6J mice: A pharmacological characterization of the open-field and light/dark tests // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2014. – V. 69, No 2. – P. 108-114. <http://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.12.005>

6. Lapitskaia A. S., Kudrin V. S. P.3.019 Interstrain differences in neurotransmitters response in BALB/c and C57BL/6 mice after open field stress // *European Neuropsychopharmacology* – V. 15. – P. S150-S151. [http://doi.org/10.1016/S0924-977X\(05\)80315-3](http://doi.org/10.1016/S0924-977X(05)80315-3)

7. Seredenin S. B., Nadorova A. V., Kolik L. G., Yarkova M. A. Effects of phenazepam on the behavior of C57BL/6 and BALB/c mice in the open field test after naloxone pretreatment // *Bull Exp Biol Med*. – 2013. – V. 155, No 3. – P. 346-9.

8. Belzung C., Lemoine M. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression // *Biology of Mood & Anxiety Disorders*. – 2011. – V. 1, No 1. – P. 9. <http://doi.org/10.1186/2045-5380-1-9>

9. Cunningham M. O., Woodhall G. L., Thompson S. E., Dooley D. J., Jones R. S. Dual effects of gabapentin and pregabalin on glutamate release at rat entorhinal synapses in vitro // *Eur J Neurosci*. – 2004. – V. 20, No 6. – P. 1566-76. <http://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03625.x>

10. Bayer K., Ahmadi S., Zeilhofer H. U. Gabapentin may inhibit synaptic transmission in the mouse spinal cord dorsal horn through a preferential block of P/Q-type Ca²⁺ channels // *Neuropharmacology*. – 2004. – V. 46, No 5. – P. 743-9. <http://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2003.11.010>

11. Seredenin S. B., Blednov Yu A., Badyshtov B. A., Gordey M. L., Nagovitsina Y. A. Pharmacogenetic analysis of mechanisms of emotional stress: effects of benzodiazepines // *Ann Ist Super Sanita*. – 1990. – V. 26, No 1. – P. 81-7.

12. Thompson T., Grabowski-Boase L., Tarantino L. M. Prototypical anxiolytics do not reduce anxiety-like behavior in the open field in C57BL/6J mice // *Pharmacol Biochem Behav*. – 2015. – V. 133. – P. 7-17. <http://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.03.011>

13. Stress, appraisal, and coping / Lazarus R. S., Folkman S. - New York: Springer Pub. Co., 1984.