

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ НЕЙРОТОКСИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ТЯЖЁЛОЙ ФОРМЫ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ЭТАНОЛОМ

Лисицкий Д.С., Войцехович К.О., Мелехова А.С.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт
токсикологии Федерального медико-биологического агентства»*

Россия, 192019, г. Санкт-Петербург, Бехтерева ул., д. 1

Тел./факс (812) 365-06-80; e-mail: institute@toxicology.ru

Резюме: Комплексное определение показателей, характеризующих состояние поведенческих, сенсорных, нейромоторных и когнитивных функций у экспериментальных животных, обеспечивает понимание патологических процессов, вызванных нейротоксикантами, включая этанол. Экспериментальное исследование нейротоксических поражений и динамики восстановления нарушенных функций позволяет оценить их выраженность и продолжительность, а также может быть использовано для выяснения эффективности и обоснования применения средств фармакологической коррекции при реабилитационных мероприятиях у лиц, перенёсших тяжёлое острое отравление алкоголем.

Ключевые слова: «Открытое поле», крестообразный лабиринт, условная реакция активного и пассивного избегания, вращающийся стержень, «Tail Flick», этанол.

BASIC EVALUATION METHODS OF NEUROTOXIC EFFECTS OF SEVERE FORMS OF ACUTE ETHANOL INTOXICATION

Lisitskiy D.S., Voytsekhovich K.O., Melehova A.S.

Federal State Institution of Science "Institute of Toxicology, Federal Medical-Biological Agency"

Abstract: Comprehensive definition of indicators defining the state of behavioral, sensorial, neuromotor and cognitive functions in experimental animals gives insight into pathological processes caused by neurotoxins, including ethanol. Experimental study of neurotoxic disorders and dynamics of the disturbed functions recovery allows evaluating of their severity and duration, and can also be used in efficiency determination and explanation of application of pharmacological preparations in rehabilitation of patients who underwent severe acute alcohol intoxication.

Keywords: Open field, X-maze, conditioned instrumental active and passive escape response, Rota road test, Tail flick, ethanol.

Введение. Комплексное определение показателей, характеризующих состояние поведенческих, сенсорных, нейромоторных и когнитивных функций у экспериментальных животных, обеспечивает понимание патологических процессов, вызванных нейротоксикантами, включая этанол [1].

Исследование двигательной активности животных – один из важных методов оценки функций нервной системы, используемый на протяжении десятилетий для оценки воздействия химических и физических агентов [2]. Двигательную активность можно рассматривать как отдельно, так и в сумме с оценкой других параметров поведения, позволяющих исследовать такие функции как привыкание (снижение уровня активности во время сеанса, или от сеанса к сеансу), пространственное распределение (местоположение в пределах камеры «открытого поля»), что может быть использовано для оценки более тонких процессов функционирования нервной системы. В то же время при интегральной оценке нейромоторной функции, помимо общей двигательной активности, следует учитывать такие показатели состояния животных как координация движений, и мышечная сила [3].

В число тестов, используемых для оценки нейромоторной функции, включённых в батарею тестов Ирвина, входят посадка мышей и крыс на наклонную поверхность и определение силы их хватки. Другой широко используемый двигательный тест Rotarod, который оценивает способность субъекта поддерживать баланс на стержне, вращающемся вокруг оси с фиксированной или постепенно увеличивающейся скоростью [4].

Тесты на обучение и память включают пространственную или позиционную навигацию, простые или сложные рефлекторные ответы в результате положительного или отрицательного подкрепления. Методики воспроизводят обучение (приобретение навыка), которое может быть оценено при повторных испытаниях или память – удержание навыка [5]. При оценке состояния когнитивных функций обучение животных может составлять от одного до нескольких испытаний в течение одного дня, тестирование – ежедневно в течение нескольких месяцев. Так как процедура водной или пищевой депривации занимает дополнительное время, многие из современных методов оценки поведения и памяти основаны либо на погружении животных в воду, либо связаны с применением электрошока. Для функционального тестирования нейротоксичности используют тест пассивного избегания, требующий развитие ассоциаций у животных.

Водные лабиринты используют для испытания пространственной или позиционной навигации, и связаны с принятием решения [6].

Опрос лабораторий, проводивших испытания химических веществ на безопасность, показал, что в большинстве из них используют тестирование когнитивных функций, а наиболее часто применимы эксперименты на избегание плавания и электроболевого раздражения [7].

Следует отметить, что нейротоксикологи применяют методологии поведенческой фармакологии и психологии для использования и усовершенствования ряда тестов на поведение, обучение и память лабораторных животных. Так, в последние годы, всё более широкое распространение для оценки состояния сложных форм поведения и уровня мотивации у мышей и крыс под влиянием токсикантов находят методы с использованием крестообразного лабиринта [8, 9, 10].

Оценка механизмов действия нейротоксикантов, идентифицированных поведенческими методами и оцененных на клеточном и молекулярном уровнях, обеспечивают понимание явлений в нервной системе, приводящих к неврологической дисфункции [5, 11]. Острые отравления этанолом, одним из широко распространенных нейротоксикантов, характеризуются целым каскадом нарушений на различных уровнях (системном, органном, клеточном и субклеточном). В настоящее время большое значение при прогнозе течения алкогольной интоксикации также придается индивидуальным, генетически детерминированным особенностям организма [12].

Методы оценки поведения и двигательной функции. В экспериментальных условиях помещение лабораторных животных-грызунов (мыши, крысы) в большую освещённую камеру (тест «открытое поле») позволяет оценить их поведение с учётом уровня двигательной активности (количество горизонтальных перемещений), ориентировочно-исследовательских реакций (количество вертикальных перемещений – стоек и заглядываний в отверстия в полу камеры), эмоциональную лабильность (по количеству дефекаций и актов мочеиспускания).

В настоящее время запись наблюдений за животными в «открытом поле» и их анализ проводится с использованием компьютерных технологий. В своей работе мы используем системы «Laboras» (Metris, Нидерланды) и «Open field» (TSE, Германия) [13]. В системах «Laboras» и «Open field» регистрируются: горизонтальная и вертикальная активность, груминг, общее пройденное расстояние (м), скорость передвижения (см/с). В

«Laboras» дополнительно можно оценить потребление воды и корма, время неподвижности, а в «Open field» – время нахождения в центре площадки и на периферии.

Широко используемый в экспериментальных исследованиях крестообразный лабиринт позволяет более полно и детально регистрировать состояние поведения животных, при этом представляется возможность оценивать состояние поисковой и исследовательской активности (количество посещённых тупиков и количество вертикальных стоек), уровень мотивации, или скорость принятия решения (латентный период выхода с центральной площадки), способность к пространственной ориентации (время полного обхода лабиринта).

Использование вращающегося стержня «Rotarod» (Ugo Basile, Италия) позволяет объективно оценить наличие мышечной релаксации, нарушения равновесия и координации движений. Измеритель силы хватки предназначен для изучения нервно-мышечных функций у грызунов (Grip Strength Tester BIO-GS3, Bioseb, Франция). Снижение силы хватки интерпретируется как признак моторной нейротоксичности [14].

Для регистрации мышечного тонуса также можно использовать тест подтягивания на горизонтальной перекладине. В этом тесте крысы подвешиваются передними лапами на проволоку, натянутую на высоте 20-30 см от поверхности стола. Интактные крысы с ненарушенным мышечным тонусом быстро подтягиваются и удерживаются на перекладине четырьмя лапами. Невыполнение этого рефлекса животными опытной группы свидетельствует о нарушении мышечного тонуса и неврологическом дефиците [15].

Методы оценки когнитивных функций. Состояние «когнитивных функций» (процессов обучения и памяти) у крыс, перенёсших острое тяжёлое отравление этанолом, оценивали с помощью метода УРАИ (условная реакция активного избегания) плавания и УРПИ (условная реакция пассивного избегания).

Следует отметить, что в многочисленных литературных источниках встречаются различные интерпретации понятия «когнитивные функции». Мы руководствуемся определением [16], согласно которому «под когнитивными (познавательными) функциями понимаются наиболее сложные функции головного мозга, с помощью которых осуществляется процесс рационального познания мира и обеспечивается целенаправленное взаимодействие с ним. Данный процесс включает четыре основных взаимодействующих компонента:

– восприятие информации;

- обработка и анализ информации;
- запоминание и хранение информации;
- обмен информацией, построение и осуществление программы действий.

Согласно мнению этих авторов, с каждым из перечисленных этапов связана определённая когнитивная функция: восприятие информации (гнозис); обработка и анализ информации – так называемые исполнительные функции, включающие произвольное внимание, обобщение, выявление сходств и различий, установление ассоциативных связей; запоминание и хранение информации – память; обмен информацией и построение, и осуществление программы действий – функции, к которым относят навыки целенаправленной двигательной активности и речь у человека (праксис). Когнитивные нарушения – это ухудшение одной или нескольких из перечисленных функций. Таким образом, имеются достаточные основания считать процессы обучения (восприятие, обработка и анализ информации) и памяти (запоминание и хранение информации) важнейшими элементами когнитивных функций, подлежащими объективной оценке у человека и у различных видов животных.

Использование методики УРАИ плавания в варианте с предварительным обучением (на протяжении 7 суток до введения этанола) позволяет выявить нарушения функций памяти у экспериментальных животных под влиянием токсических агентов, поскольку в данном случае регистрируется воспроизведение предварительно приобретённого навыка избегания аверсивного стимула (нахождение в воде). О собственно амнезическом воздействии токсиканта при данной постановке эксперимента можно говорить только в течение 1-х суток после интоксикации, поскольку при последующих помещении крыс в воду на показатели УРАИ сказывается влияние и процесса обучения.

Оценка состояния выработки УРАИ плавания предварительно не тренированных крыс позволяет выявить динамику приобретения навыка избегания при повторных тестированиях реакции и, тем самым, изучать влияние токсических агентов собственно на процесс обучения экспериментальных животных [17].

Метод условной реакции пассивного избегания болевого раздражения основан на выработке реакции избегания электрокожного болевого раздражения у крыс, предъявляемого в предпочитаемом грызунами тёмном отсеке челночной камеры [18]. Методики, основанные на использовании дозированного болевого подкрепления (электростимуляции) позволяют выработать условный рефлекс активного или пассивного

избегания быстро, он в меньшей мере зависит от случайных колебаний эмоционального фона и других причин.

Обучение животных УРПИ проводится в двухкамерной установке PACS-30 (Columbus Instruments, США) состоящей из затемнённого и освещённого отсеков, соединенных дверцей. Ток силой 1 мА предъявляется в течение 3-х секунд, однократно.

Эксперимент состоит из 3-х стадий:

1) исследование норок («норковый рефлекс») – крыса помещается в светлый отсек (хвостом к дверце). Вследствие своих биологических особенностей (врождённое предпочтение тёмных участков пространства у грызунов) крыса предпочитает находиться в тёмном помещении. Животных, не имеющих «норкового рефлекса», не используют для дальнейшего эксперимента. В эксперимент отбираются крысы, время пребывания которых в светлой камере не превышает 20-ти секунд, данное время регистрируется как латентный период первого захода (ЛП₀);

2) обучение – при переходе в тёмный отсек животное там получает болевое электрокожное раздражение через электродный пол. Обучение животных проводится непосредственно перед введением этанола в дозе 0,8 ЛД₅₀;

3) воспроизведение – через 12 часов и 24 часа после обучения и введения этанола в дозе 0,8 ЛД₅₀ крысу помещают в светлый отсек. В течение 2 минут регистрируют следующие параметры: количество обученных крыс (не зашедших в тёмную камеру на протяжении 2 минут) в процентах от общего количества животных, и латентный период первого захода через 12 и 24 часа после обучения (ЛП₁₂ и ЛП₂₄). При дальнейших расчётах используется разница между латентными периодами ЛП₁₂ – ЛП₀ и ЛП₂₄ – ЛП₀.

Методы оценки болевой чувствительности. Тест отдёргивания хвоста – крысу помещают в горизонтально расположенный цилиндр соответствующих размеров, сделанный из пластика (с перфорацией), при этом хвост животного закрепляют. Световой пучок большой интенсивности (10 Люкс), генерируемый лампой прибора «Tail Flick Analgesia Meter» (Columbus Instruments, США) фокусируется на хвосте до тех пор, пока не происходит отдёргивание хвоста (т.е. когда тепловое воздействие на кожу достигает критического уровня). Для определения изменения порога болевой чувствительности регистрируется время отдёргивания хвоста в секундах. Критерием анальгетического эффекта считают достоверное удлинение времени отдёргивания хвоста – времени избавления от болевого раздражителя (сек) после введения вещества, по сравнению с контрольной группой животных.

Тест механического сдавливания лапы – задняя лапа крысы фиксируется под конусовидным выступом прибора «Analgesy-meter» (Ugo Basile, Италия). Регистрируют в граммах силу сдавливания, вызывающего отдёргивание задней лапы животного, увеличение которой говорит о снижении болевой чувствительности. Критерием анальгетического эффекта считают достоверное увеличение веса (г) вызывающего отдёргивание лапы по сравнению с контрольной группой животных.

Оценка нейротоксических последствий тяжёлой формы острого отравления этанолом. Экспериментальное исследование нейротоксических поражений и динамики восстановления нарушенных функций позволяет оценить их выраженность и продолжительность, а также может быть использовано для выяснения эффективности и обоснования применения средств фармакологической коррекции при реабилитационных мероприятиях у лиц, перенёсших тяжёлое отравление алкоголем [19, 20].

При оценке поведения и психомоторной активности с использованием метода «открытое поле», прежде всего, проявляется депримирующее действие этанола, выражающееся в уменьшении общей двигательной активности и числа горизонтальных перемещений на протяжении первых трёх суток после введения 0,8 ЛД₅₀ этилового спирта. Использование метода крестообразный лабиринт позволило нам установить такие поведенческие нарушения как замедление принятия решений – снижение уровня мотивации (на протяжении 5 суток после введения 0,8 ЛД₅₀ этанола), снижение поисковой и исследовательской активности, нарушение пространственной ориентации (на протяжении 9 суток после введения 0,8 ЛД₅₀ этанола). При этом нарушение исследованных сложных форм поведения не может быть объяснено только угнетающим эффектом этанола на двигательную сферу, поскольку достоверное снижение количества горизонтальных перемещений у крыс, отравленных этанолом, по сравнению с интактными животными, зарегистрировано только в течение 3 суток после аппликации спирта. В то же время такой показатель как время полного обхода крестообразного лабиринта, характеризующий способность к пространственной ориентации, находился практически на уровне максимальной продолжительности регистрации (300 секунд) у крыс в течение всего периода наблюдения после отравления этанолом – 9 суток [9].

Необходимо отметить, что при оценке двигательной активности и поведения с использованием обоих указанных методов у интактных крыс при повторных тестированиях от первого к девятому дню наблюдения проявлялся феномен «неассоциативного обучения», который характеризовался последовательным снижением

показателей двигательной и исследовательской активности при повторных помещениях крыс в уже знакомую обстановку открытого поля и крестообразного лабиринта. «Неассоциативное обучение» заключается в естественном ослаблении реакции животного или человека на внешние факторы (раздражители) при их многократном повторном предъявлении в том случае, если они не грозят организму существенными отрицательными последствиями. Способность к обучению базируется на присущем центральной нервной системе свойстве пластичности, которое проявляется изменением реакции на повторно повторяющийся раздражитель. В случае «неассоциативного обучения», в конечном итоге, развивается привыкание к внешним раздражителям, не причиняющим организму вреда. Привыкание распространено чрезвычайно широко от примитивных организмов до человека. Оно обеспечивает адекватность реакций организма, устраняя все лишние, не приносящие ощутимой пользы, не затрагивая лишь жизненно необходимые [21]. В конечном итоге, это позволяет центральной нервной системе перестроиться на восприятие новых, требующих оперативного реагирования стимулов. У крыс, перенёсших тяжёлое отравление этанолом, не отмечались признаки естественного угасания двигательной активности при помещении их в «открытое поле» в течение 7 суток наблюдения, что не соответствует критериям «неассоциативного обучения». Отсутствие динамики показателей поисковой и исследовательской активности (стабильно низкое количество стоек и посещений тупиков в крестообразном лабиринте) на протяжении 9 суток после отравления не позволяет по этим параметрам судить о наличии данного феномена у экспериментальных животных [22].

Одним из важных последствий токсического действия этанола на ЦНС является нарушение процессов памяти и обучения. Использование двух вариантов метода УРАИ плавания у крыс позволило установить, что в соматогенной стадии тяжёлой формы острого отравления этанолом существенно нарушаются выработка и сохранение навыка избегания аверсивного стимула (в данном случае пребывания в воде). Использование варианта повторных тестирований УРАИ плавания (ежедневно в течение 9 суток) у крыс без предварительной тренировки позволяет оценить динамику формирования навыка избегания и изучить влияние токсических воздействий непосредственно на процесс обучения. Установлено, что острое тяжёлое отравление этанолом приводило к резкому и длительному ухудшению обучения, о чём свидетельствовало достоверное увеличение времени пребывания крыс в воде по сравнению с интактными животными на протяжении всего срока наблюдения после отравления. Вариант УРАИ с предварительным обучением

крыс и последующим тестированием реакции через 12 и 24 часа после введения 0,8 ЛД₅₀ этанола позволил установить нарушение памяти у экспериментальных животных, поскольку латентный период УРАИ плавания (время пребывания в воде) у них достоверно увеличивался соответственно в 2,5 и 2,2 раза по сравнению с контролем. В виду того, что при оценке состояния обучения и памяти был использован метод условной реакции активного избегания аверсивного раздражителя (помещение крысы в воду), позволивший установить нарушение этих процессов под влиянием этанола, можно заключить, что этиловый спирт как нейротоксикант приводит также к нарушениям процессов «ассоциативного обучения». Известно, что в основе процессов «ассоциативного обучения» лежит формирование временных связей и выработка различных видов условных рефлексов, включая классические, инструментальные дифференцировочные и др. [9].

Оценка состояния нейромоторики осуществлялась с помощью метода «вращающегося стержня» и определения силы хватки передних лап у крыс. Метод «вращающегося стержня» позволяет объективно оценить наличие мышечной релаксации, способность удерживать равновесие и состояние координации движений. В исследовании установлено, что через 12 часов после введения 0,8 ЛД₅₀ этанола время удерживания крыс на стержне уменьшалось более чем в три раза по сравнению с этим показателем у интактных животных. На третьи сутки после отравления продолжительность удерживания крыс на вращающемся стержне достигала контрольных значений. Сила хватки после острого отравления этанолом оказалась сниженной в течение трёх суток [22]. Подобное проявление мышечной слабости может быть следствием моторной нейротоксичности, поскольку сила захвата передними лапами характеризует состояние срединного нерва, иннервирующего сгибатели пальцев передних конечностей животных [14].

После однократного введения 0,8 ЛД₅₀ этанола на протяжении двух суток у крыс было отмечено снижение болевой чувствительности на термический и механический болевые стимулы. Это совпадает с литературными данными, согласно которым этанол обладает умеренной анальгезирующей активностью, уменьшает остроту восприятия стрессорных факторов, снижает чувство страха [23].

Заключение. Таким образом, проведённые исследования позволили установить, что у экспериментальных животных, перенёвших тяжёлую форму отравления этанолом, наблюдаются поведенческие и неврологические нарушения как последствия его нейротоксического действия. Сопоставление выявленных нарушений по выраженности и

длительности эффекта продемонстрировало, что в наибольшей степени токсическому действию этанола подвержены такие формы поведения как исследовательская активность, уровень мотивации и способность к пространственной ориентации. Параллельно этому регистрируется ухудшение способности животных к выработке и сохранению приобретённого навыка избегания аверсивного стимула, свидетельствующее о нарушении процессов памяти и обучения. Если экстраполировать полученные данные на человека, то можно предположить, что у лиц, перенёсших тяжёлую степень острого алкогольного отравления, будут проявляться нарушения когнитивных функций, и, в конечном итоге снижение психической работоспособности.

Литература.

1. Гребенюк, А.Н. Экспериментальная оценка нейротоксических эффектов этанола и их коррекция пептидными препаратами / А.Н. Гребенюк, В.Л. Рейнюк, Д.А. Халютин, Е.В. Давыдова // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2014. – № 3. – С. 70-77.
2. Tilson, H.A. Neurobehavioral techniques to assess the effects of chemicals on the nervous system / H.A. Tilson, C.L. Mitchell // Ann Rev Pharmacol Toxicol. – 1984. – № 24. – P. 425-450.
3. Софронов, Г.А., Шилов, В.В. Экспериментальная токсикология / Под ред. Г.А. Софронова и В.В. Шиловой. – СПб.: «ЭЛБИ-СПб», 2011. – 272 с.
4. Hamm, R.J. The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury / R.J. Hamm, B.R. Pike, D.M. O'Dell et al. // J. Neurotrauma. – 1994. – № 11. – P. 187-196.
5. Moser, V.C. Observational batteries in neurotoxicity testing / V.C. Moser // Int. J. Toxicol. – 2000. – № 19. – P. 407-411.
6. Vorhees, C.V. Methods for detecting long-term CNS dysfunction after prenatal exposure to neurotoxins / C.V. Vorhees // Drug Chem. Toxicol. – 1997. – № 20. – P. 387-399.
7. Calton, J.L. Where am I and how will I get there from here? A role for posterior parietal cortex in the integration of spatial information and route planning / J.L. Calton, J.S. Taube // Neurobiol Learn Mem. – 2009. – № 91. – P. 186-196.
8. Ehman, K.D. Evaluation of cognitive function in weanling rats: a review of methods suitable for chemical screening / K.D. Ehman, V.C. Moser // Neurotoxicol Teratol. – 2006. – № 28. – P. 144-161.

9. Лисицкий, Д.С. Фармакологическая коррекция последствий нейротоксических поражений при тяжёлых формах острых отравлений этанолом : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 14.03.04, 14.03.06 / Лисицкий Дмитрий Сергеевич. – Санкт-Петербург, 2013. – 26 с.
10. Шевчук, М.К. Использование методики крестообразного лабиринта для токсикологической оценки безопасности слабоалкогольных напитков / М.К. Шевчук, А.Н. Петров, Е.К. Георгианова, А.В. Лычаков // Токсикологический вестник. – 2005. – № 3. – С. 25.
11. Долго-Сабулов, В.Б. Центральные нейрхимические эффекты острого и хронического воздействия этанола. Механизмы толерантности и зависимости (обзор литературы) / В.Б. Долго-Сабулов, А.Н. Петров, Д.С. Лисицкий, В.А. Беляев // Биомедицинский журнал Medline.ru. – 2011. – Том 12. – С. 1423-1436.
12. Осечкина, Н.С. Влияние экспрессии и полиморфизма генов, кодирующих ГАМК-рецепторы, на тяжесть депримирующего действия этанола у крыс / Н.С. Осечкина, Г.В. Назаров, Е.Ю. Бонитенко, М.Б. Иванов, В.А. Кашуро, Н.В. Лапина, А.В. Бабкин, И.С. Бердинских, А.С. Мелехова, К.О. Войцехович, Д.С. Лисицкий, Н.В. Макарова, Т.В. Кашина // Токсикологический вестник. – 2014. – № 6. – С. 22-27.
13. Лисицкий, Д.С. Применение автоматизированных систем Laboras и Open field для оценки поведения и двигательной активности животных после острого алкогольного отравления / Д.С. Лисицкий, А.С. Мелехова // Сборник материалов I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации», СПХФА, Санкт-Петербург, 20 ноября 2013 г. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2013. – С. 49-50.
14. Bertelli, J.A. The rat brachial plexus and its terminal branches: an experimental model for the study of peripheral nerve regeneration / J.A. Bertelli, M. Taleb, A. Saadi et al. // Microsurgery. – 1995. – № 16(2). – P. 77-85.
15. Воронина, Т.А. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ / Т.А. Воронина, С.Б. Середенин // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000. – С. 126-130.
16. Захаров, В.В. Когнитивные расстройства в пожилом и старческом возрасте: Методическое пособие для врачей / В.В. Захаров, Н.Н. Яхно. – М., 2005. – 71 с.

17. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д.П. Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
18. Кругликов, Р.И. Нейрохимические механизмы обучения и памяти / Р.И. Кругликов. – М.: «Наука», 1981. – 211 с.
19. Лисицкий, Д.С. Фармакологическая коррекция нарушений когнитивных функций у крыс после тяжёлой формы острого отравления этанолом на фоне предварительной алкоголизации / Д.С. Лисицкий, А.С. Мелехова // Сборник трудов IV Съезда токсикологов России с международным участием, Москва, 6-8 ноября 2013 г. – М.: Издательство Capital Press, 2013. – С. 289-291.
20. Лисицкий, Д.С. Применение пикамилаона и ноопепта, а также их сочетания у белых крыс для устранения последствий тяжёлой степени острой алкогольной интоксикации / Д.С. Лисицкий, А.Н. Петров, М.К. Шевчук // Журнал «Вестник Российской военно-медицинской академии». – 2014. – № 1(45). – С. 156-159.
21. Зорина, З.А. Зоопсихология. Элементарное мышление животных / З.А. Зорина, И.И. Полетаева. – М.: «Аспект Пресс», 2001. – 320 с.
22. Лисицкий, Д.С. Фармакологическая коррекция нейротоксических поражений у белых крыс после тяжёлой формы острой алкогольной интоксикации / Д.С. Лисицкий, А.Н. Петров, М.К. Шевчук // Токсикологический вестник. – 2013. – № 1. – С. 19-23.
23. Шабанов, П.Д. Биология алкоголизма / П.Д. Шабанов, С.Ю. Калишевич. – СПб.: Изд. «Лань», 1998. – 272 с.