

# Проведение и автоматизация теста «водный лабиринт Морриса» в условиях SPF-вивария

Н.В. Хоцкин<sup>1</sup>, В.А. Куликов<sup>2</sup>, Е.Л. Завьялов<sup>1</sup>, Д.В. Фурсенко<sup>1</sup>, А.В. Куликов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт автоматики и электрометрии Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

«Водный лабиринт Морриса» является основным тестом для изучения пространственного обучения и памяти у лабораторных грызунов. Он входит в батарею тестов, обязательных для поведенческого фенотипирования мутантных и трансгенных мышей. В то же время проведение данного теста в условиях SPF-вивария весьма затруднено жесткими требованиями контроля патогенов. Другой проблемой при проведении теста является низкая контрастность белого животного на фоне забеленной поверхности воды, что делает невозможным его автоматическую трассировку. В Институте цитологии и генетики СО РАН и Институте автоматики и электрометрии СО РАН на базе EthoStudio была разработана уникальная установка, позволяющая автоматизировать трассировку мышей любого окраса в условиях SPF-вивария. Эта установка включала стенд для пластикового бака (110 × 40 см) для воды, цифровой видеокамеры и системы освещения. Воду для заполнения бака стерилизовали с помощью ультрафиолетового обеззараживателя Van Erp Blue Lagoon UV-C Tech 15 000. Изображение животного покадрово обрабатывалось программой EthoStudio, и вычислялись такие параметры, как латентное время освобождения, пройденный путь, кумулятивное расстояние до платформы и время нахождения в секторах бака. С помощью созданной установки были изучены пространственное обучение и память у мышей линии C57BL/6 и созданной на ее базе линии C57BL/6/Kaiso с нокаутом гена, кодирующего метил-ДНК связывающий белок Kaiso. Было показано, что мыши этих линий способны обучаться находить платформу в водном лабиринте Морриса и помнить положение платформы, по крайней мере, в течение последующих четырех дней.

Ключевые слова: водный лабиринт Морриса; пространственная память; автоматизация измерений; нокаутные мыши.

## Conducting and automating the water Morris maze test in SPF conditions

N.V. Khotskin<sup>1</sup>, V.A. Kulikov<sup>2</sup>, E.L. Zavyalov<sup>1</sup>, D.V. Fursenko<sup>1</sup>, A.V. Kulikov<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Institute of Automation and Electrometry SB RAS, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

The water Morris maze is the basic test to study the spatial ability to learn as well as spatial memory in laboratory rodents. It is a part of a series of tests necessary for behavioral phenotyping of mutant and transgenic mice. At the same time, conducting this test in SPF conditions must comply with very strict regulations concerning pathogen control. A white animal on the surface of whitened water is low contrast and this does not allow the animal to be traced automatically, which represents yet another major problem. A unique installation based on EthoStudio has been developed at the Institute of Cytology and Genetics SB RAS and the Institute of Automation and Electrometry SB RAS. This installation automates the process of tracing mice of any coat color in SPF conditions. This includes a setup to install a plastic water reservoir (110 × 40 cm), a digital camera and a light source. Water to fill the reservoir was sterilized using a Van Erp Blue Lagoon UV-C Tech 15 000 ultraviolet decontaminator. The image of an animal was processed in a frame-by-frame fashion using the EthoStudio program, with the following parameters calculated: latent release time, route covered, cumulative distance to the platform and the time spent in the reservoir sectors. With this installation, we were able to study the spatial ability to learn and spatial memory in mice of the C57BL/6 strain and in mice of the C57BL/6/Kaiso strain developed on the C57BL/6 background, with the gene encoding the methyl-DNA binding Kaiso protein knocked-out. It has been demonstrated that mice of these strains are able to learn to find the platform in the water Morris maze and have the location of the platform in their memory for at least the next four days.

Key words: water Morris maze; spatial memory; measurement automation; knockout mice.

### КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Хоцкин Н.В., Куликов В.А., Завьялов Е.Л., Фурсенко Д.В., Куликов А.В. Проведение и автоматизация теста «водный лабиринт Морриса» в условиях SPF-вивария. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(4):388-393. DOI 10.18699/VJ15.049

### HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Khotskin N.V., Kulikov V.A., Zavyalov E.L., Fursenko D.V., Kulikov A.V. Conducting and automating the water Morris maze test in SPF conditions. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(4):388-393. DOI 10.18699/VJ15.049

DOI 10.18699/VJ15.049

УДК 591.5:57.088

Поступила в редакцию 23.06.2015 г.

Принята к публикации 20.07.2015 г.

© АВТОРЫ, 2015

Обучение – сложный процесс формирования нового поведения, и его изучение является очень важным для понимания функционирования нервной системы. Водный лабиринт Морриса (ВЛМ) является одной из основных моделей изучения пространственной памяти и процесса обучения у лабораторных грызунов. ВЛМ входит в батарею тестов, обязательных для поведенческого фенотипирования мутантных и трансгенных мышей (Crawley, 2008). Кроме того, этот тест широко используется для изучения нарушений обучения, памяти и механизма их фармакологической коррекции (D’Hoodge, De Deyn, 2001). ВЛМ широко используется для изучения нейропротекторного действия нейротрофических факторов (Tandon et al., 1999; Vlaha et al., 2000; Cirulli et al., 2000; 2004; Kulikov et al., 2014).

ВЛМ представляет собой цилиндрический бассейн, заполненный подкрашенной водой и виртуально разделенный на четыре сектора. В середину одного из секторов (первый, или целевой, сектор) помещают платформу, верхняя поверхность которой находится под водой на глубине 0,5 см и не видна животному. Тест включает два протокола: обучение и проверку. В процессе обучения мышь в течение нескольких последовательных дней обучают находить платформу и выбираться из воды, используя ближние ориентиры, дальние ориентиры или запоминая последовательность движений (D’Hoodge, De Deyn, 2001). Успешность обучения оценивают по уменьшению таких параметров, как латентное время спасения на платформе, расстояние, пройденное от места помещения в воду до платформы, и кумулятивная дистанция между центром мыши и платформой (Gallagher et al., 1993; Dalm et al., 2000, 2009). Если животное запомнило положение платформы, то во время проверки, когда платформу убирают, она большее время будет находиться в целевом секторе (D’Hoodge, De Deyn, 2001).

В последнее время широкое распространение получила автоматическая трассировка перемещения животного с помощью присоединенной к компьютеру цифровой видеокамеры, которая является более точным и объективным методом изучения поведения, чем визуальная регистрация (Noldus et al., 2001; Spink et al., 2001).

Автоматическая трассировка движения животного в ВЛМ сопряжена с рядом технических трудностей. Первая трудность обусловлена низким контрастом животного на фоне забеленной поверхности воды. Регистрация в проходящем свете является одним из решений этой проблемы (Куликов и др., 2007; Kulikov et al., 2008). Однако большие вес и площадь бака с водой затрудняют использование проходящего освещения. Наконец, в условиях SPF-вивария вода не должна содержать бактерии, а использование специальных антибактериальных фильтров значительно повышает стоимость эксперимента.

Поведенческое фенотипирование мутантных и трансгенных мышей является важнейшей задачей исследований по нейрогенетике поведения (Crawley, 2008). Белок Каизо является одним из факторов транскрипции, который узнает метилированные цитозины в молекуле ДНК, связывается с ними и подавляет транскрипцию генов (Yoon et al., 2003). Мыши с нокаутом гена *Kaiso* (C57BL/6/*Kaiso*, KO) отличаются от мышей дикого типа (C57BL/6, WT) повы-

шенной двигательной и исследовательской активностью в тесте «открытое поле» и сниженным временем депрессивно-подобной неподвижности в тесте «принудительное плавание» (Коростина, Куликов, 2015).

Целью данной работы являются разработка установки для проведения теста ВЛМ с регистрацией в проходящем свете, соответствующей требованиям SPF-вивария, и изучение влияния нокаута гена *Kaiso* на обучение и пространственную память мышей.

## Материалы и методы

### Животные

Исследования проводили в Центре генетических ресурсов лабораторных животных ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI62114X0010). Опыты проводили на половозрелых самцах мышей линий C57BL/6 (WT,  $n = 9$ ) и C57BL/6/*Kaiso* (KO,  $n = 9$ ). Линия C57BL/6 была выбрана потому, что она наиболее часто используется при создании большинства мутантных и трансгенных линий мышей, в том числе и при создании линии C57BL/6/*Kaiso*. Линия C57BL/6/*Kaiso* была выведена Е.Б. Прохорчуком (Prokhortchouk et al., 2006) и получена в SPF-виварий ИЦиГ СО РАН из питомника лабораторных животных РАН «Пушино» (г. Пушино, Россия). Все животные были в возрасте 11 недель и весили  $26 \pm 1$  г. С момента отсадки от матерей мышей содержали в группах по 6 особей в индивидуально вентилируемых пластиковых клетках (Techniplast, Италия) при регулируемом 14-часовом освещении, температуре  $23^\circ\text{C}$  и влажности 60%. Полноценный корм и воду они получали без ограничения. За два дня до эксперимента животных рассаживали в отдельные вентилируемые клетки того же размера для снятия группового эффекта. Все эксперименты проводили во время сумерек и начала ночной фазы (15:00–18:00). Содержание мышей и все экспериментальные процедуры были выполнены в соответствии с международными правилами обращения с животными (Директива 86/309 Европейского сообщества от 24 декабря 1986 г.) и одобрены комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН.

### Установка

Для тестирования поведения использовался программно-аппаратный комплекс EthoStudio, созданный в ФГБНУ «Институт автоматики и электрометрии СО РАН» и адаптированный для SPF-вивария. Экспериментальная установка состояла из металлического стенда ( $120 \times 120 \times 220$  см), на котором крепилась полка ( $120 \times 120$  см) из прозрачного оргстекла толщиной 10 мм с круглым бассейном ( $110 \times 30$  см) из матового полихлорвинила. Бассейн освещали через матовое дно двумя галогеновыми лампами 35 Вт каждая, расположенными на расстоянии 50 см под дном бассейна (рис. 1). В бассейн наливали воду (температура  $25^\circ\text{C}$ ), которая проходила предварительную стерилизацию при помощи ультрафиолетового обеззараживателя Van Erp Blue Lagoon UV-C Tech 15 000, до отметки 15 см и подкрашивали ее в белый цвет при помощи автоклавированного сухого молока. Поверхность



**Рис. 1.** Общий вид ВЛМ для трассировки животных в проходящем свете.  
1 – видеокамера; 2 – ближний ориентир; 3 – ультрафиолетовый очиститель; 4 – бассейн;  
5 – компьютер; 6 – лампа.

бассейна была виртуально разделена на четыре сектора. В геометрический центр нижнего правого сектора (первый, или целевой, сектор) помещали стеклянную платформу диаметром 6 см, верхняя поверхность которой была скрыта на 0,5 см под водой и невидима для мыши. На ближайшую к платформе стенку бассейна (напротив платформы) наклеивался темный квадрат  $6 \times 12$  см, который служил внешним ориентиром.

### Протокол тестирования

Тест состоял из двух частей: обучения и проверки. В течение последовательных 4 дней мышь обучали находить платформу. Ежедневное обучение включало 3 попытки с интервалом 30 с. В ходе этих попыток животное последовательно помещали в различные секторы: второй, третий и четвертый (по часовой стрелке от целевого). Движения животного в течение минуты регистрировали цифровой видеокамерой, расположенной на высоте 220 см от пола и присоединенной к компьютеру через USB-интерфейс. Свет, проходя через толщу воды в бассейне, попадал в объектив цифровой видеокамеры. Мышь любого окраса выглядела, как темный силуэт на ярком фоне. Если мышь не находила платформу, ее принудительно помещали на нее. В любом случае животное оставалось на платформе не менее 15 с.

Трассировку проводили в режиме реального времени с одновременной записью в компрессированный видеодатчик с помощью программы EthoStudio (Куликов и др., 2007; Kulikov et al., 2008), которая последовательно анализировала кадры изображения, находила ассоциированные с мышью пиксели и вычисляла следующие показатели: 1) латентное время освобождения (с), в течение которого мышь находила платформу и забиралась на нее; 2) путь (см), который животное проходило от места помещения в воду до платформы; 3) кумулятивную дистанцию между центром мыши и платформой (см), которую вычисляли как сумму всех расстояний между геометрическим центром мыши и центром платформы. Если животное не находило платформу, то значение латентного времени принимали равным 60 с. Для каждого дня вычисляли средние значения латентного времени, пройденного пути и кумулятивной дистанции по 3 попыткам. Эффективность обучения оценивали по уменьшению значений этих трех показателей.

На 5-й день проводили проверку пространственной памяти. Для этого платформу убирали и животное три раза с интервалом 30 с помещали в центр бассейна и в течение минуты трассировали его движения. С помощью карты распределения ассоциированных с животным пикселей определяли время нахождения в каждом из секторов (%) и вычисляли средние значения для 3 попыток. Статистически значимое превышение времени нахождения в целевом секторе над случайным (25 %) свидетельствовало о том, что мышь помнит расположение платформы. Для оценки длительности удержания следов памяти проверку повторяли через 4 дня.

### Статистика

Значения показателей для каждого животного представляли как среднее  $\pm$  ошибка средней. Значения латентного времени, пройденного пути и кумулятивной дистанции в различные дни обучения анализировали двухфакторным ANOVA для зависимых наблюдений (дни) с последующим *post hoc* сравнением по Фишеру. Значения времени в целевом секторе при проверке сравнивали со случайным (25 %) с помощью *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты

Мыши обеих линий демонстрировали похожую хорошую обучаемость в ВЛМ. Уже на 3-й день обучения 8 из 9 протестированных животных каждой линии достоверно снижали латентное время, пройденный путь и кумулятивную дистанцию до платформы по сравнению с 1-м днем (таблица, рис. 2). Эти сниженные значения сохранялись и на 4-й день обучения (рис. 2). В то же время по одной мыши от каждой линии ни разу не смогли найти платформу.

В ходе проверки запоминания положения платформы на 5-й день 8 из 9 мышей каждой линии, которых обучили находить платформу, помнили ее местоположение: время их нахождения в целевом секторе достоверно отличалось от случайного (25 %) (рис. 3, 4). Более того, они демонстрировали предпочтение целевого сектора через 4 дня после проверки (рис. 4).

Эффекты факторов «генотип», «время обучения» и их взаимодействия при сравнении динамики обучения мышей WT и КО в ВЛМ с помощью двухфакторного ANOVA

Показатель	Генотип	Дни обучения	Взаимодействие
Латентное время	$F_{1,16} < 1$	$F_{3,48} = 13,57, p = 0,000002$	$F_{3,48} < 1$
Пройденный путь	$F_{1,16} < 1$	$F_{3,48} = 17,1, p < 0,000001$	$F_{3,48} < 1$
Кумулятивная дистанция	$F_{1,16} < 1$	$F_{3,48} = 12,93, p = 0,000003$	$F_{3,48} < 1$

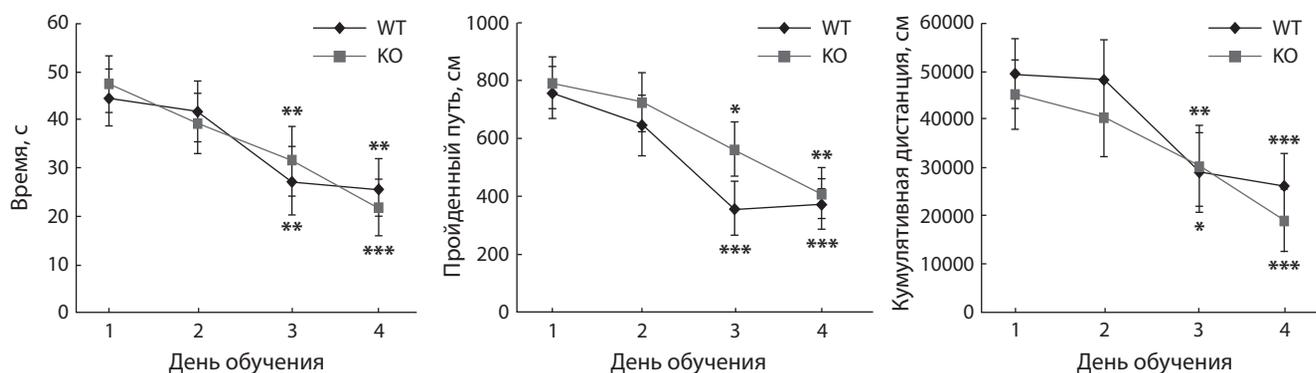


Рис. 2. Динамика изменения латентного времени, пройденного пути и кумулятивной дистанции до платформы в процессе обучения мышей WT и КО в ВЛМ.

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  по сравнению с первым днем.

При проверке у мышей WT была выявлена достоверная негативная корреляция ( $r = -0,79, p < 0,05$ ) между латентным временем на 4-й день обучения и временем в целевом секторе на 5-й день, тогда как у мышей КО такой корреляции выявлено не было ( $r = -0,3, p > 0,05$ ).

### Обсуждение

Была создана уникальная установка для автоматической трассировки мышей в тесте ВЛМ с обращенным освещением. Конструкция установки позволяет выдерживать вес бассейна с водой (250 кг). УФ-обеззараживатель воды Van Eep Blue Lagoon UV-C Tech 15 000 позволяет быстро и дешево получить большую массу лишенной микробов воды. Измерение в проходящем свете значительно увеличивает контрастность изображения и обеспечивает эффективную автоматическую трассировку животного.

В наших предыдущих исследованиях мы не использовали внешние ориентиры. Мышей помещали в воду в фиксированной точке, и они находили платформу, ориентируясь только на сформированную в своем мозгу пространственную карту ВЛМ

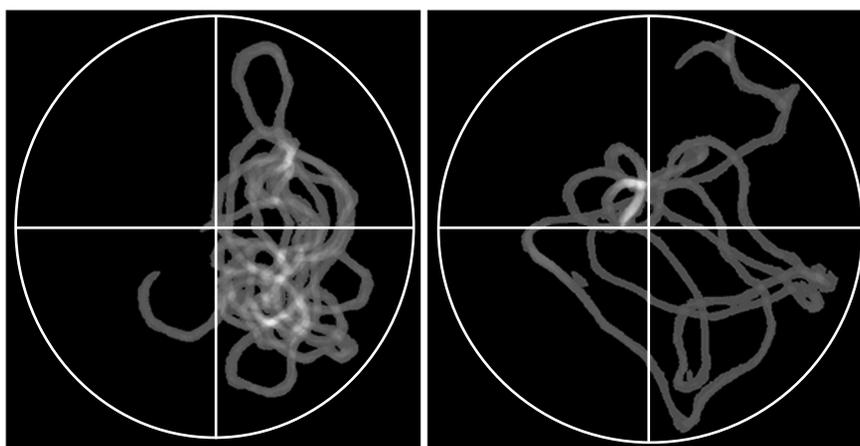
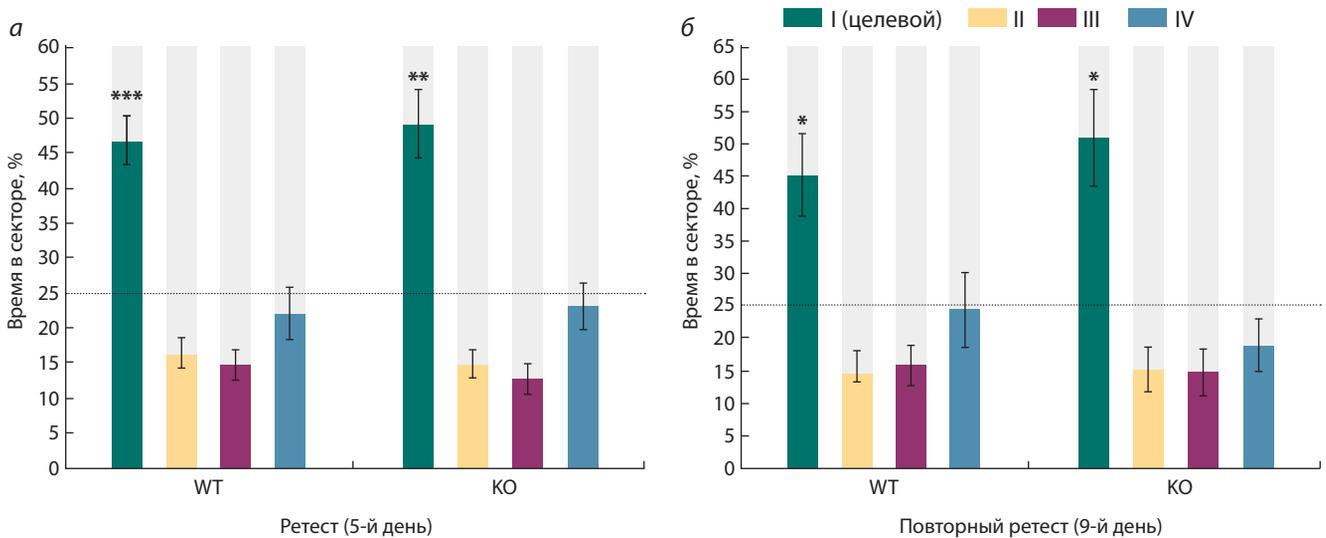


Рис. 3. Траектория движения и плотность нахождения мыши (WT) в секторах ВЛМ во время проверки на 5-й день после обучения.

Слева – траектория движения животного, которое успешно обучилось в течение четырех дней и помнит место платформы. Справа – траектория животного, которое не помнит место платформы и случайно исследует все сектора. В процессе обучения платформа располагалась в правом нижнем (целевом) секторе.

(Хоцкий и др., 2014; Kulikov et al., 2014; Naumenko et al., 2014). Было отмечено, что при таком протоколе теста мыши обучаются медленно и для исследованных линий четырех дней было явно мало для запоминания положения платформы. Кроме того, поскольку мышей помещали в воду всегда на границе II и III секторов, при проверке возникала значительная ошибка, связанная с распределением времени нахождения животного в секторах (Kulikov et al., 2014). Это создавало затруднения при использовании классического критерия



**Рис. 4.** Время в секторах ВЛМ у мышей WT и KO во время первой проверки на 5-й день (а) и второй проверки на 9-й день после обучения (б). \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  по сравнению со случайным нахождением в секторе (25 %).

запоминания – времени в целевом секторе. Создавалось впечатление, что мыши многих линий не помнят место платформы.

В данном исследовании мы разработали другую стратегию, которая включала внешний ориентир (темный прямоугольник, наклеенный на стенку бассейна напротив платформы). Во время обучения мышей помещали в воду в разных точках бассейна. В то же время при проверке мышей помещали в центр бассейна, что позволяло избежать влияния начальной точки на предпочтение животными конкретного сектора.

Такая измененная стратегия обучения (1) позволила улучшить ее динамику – около 90 % мышей линии C57BL/6 уверенно находили платформу уже на 3-й день обучения – и (2) показала, что мыши линии C57BL/6 хорошо помнят место платформы на 5-й и 9-й дни после обучения и ищут ее в соответствующем секторе. Это, по-видимому, произошло потому, что мыши в процессе обучения смогли связать внешний ориентир с положением платформы. У мышей C57BL/6 наблюдалась хорошая корреляция динамики обучения с памятью: мыши, которые быстрее находили платформу в процессе обучения (меньшее латентное время), больше времени проводили в целевом секторе во время проверки на 5-й день.

Разработанная установка, программное обеспечение и протокол теста были использованы для выяснения влияния нокаута гена *Kaiso* на способности мышей к обучению и запоминанию в ВЛМ. В статье, опубликованной в этом номере (Коростина, Куликов, 2015), показано, что мыши с нокаутом гена *Kaiso* (KO) более подвижны в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» по сравнению с животными WT. В данном эксперименте мы не нашли каких-либо достоверных отличий между мышами KO и WT по динамике обучения и по способности к запоминанию места платформы в ВЛМ. Способности к обучению и памяти обычно связывают с нейронами коры и гиппокампа (Derdikman, Moser, 2010; Moser, Moser,

2014; Moser et al., 2015). Поэтому отсутствие эффекта нокаута гена *Kaiso* на обучение и память мышей KO позволяет предположить, что данный нокаут не затрагивает нейроны гиппокампа.

Таким образом, разработанная установка позволяет изучать механизмы обучения и пространственной памяти в ВЛМ в условиях SPF-вивария с последующим возвращением животных в комнату содержания без опасности заражения как экспериментальных, так и содержащихся там других животных. Разработанное программное обеспечение полностью автоматизирует вычисление всех необходимых параметров, что соответствует требованиям высокой точности и объективности измерения. Предложенный протокол обучения и проверки исключает влияние начального положения животного на результаты обучения и память. Установка, программное обеспечение и протокол теста используются для поведенческого фенотипирования мутантных и трансгенных животных в условиях SPF-вивария.

### Благодарности

Работа выполнена в рамках бюджетного проекта VI53.2.2 и поддержана проектом РНФ № 14-25-00038.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

- Коростина В.С., Куликов А.В. Поведенческое фенотипирование мышей с нокаутом гена *Kaiso*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(4):399-403. DOI: 10.18699/VJ15.051
- Куликов В.А., Киричук В.С., Тихонова М.А., Куликов А.В. Использование плотности вероятности для автоматизации измерения пространственного предпочтения в этологическом эксперименте. Докл. АН. 2007;417:279-283.
- Хоцкин Н.В., Фурсенко Д.В., Базовкина Д.В., Куликов В.А., Куликов А.В. Автоматическое измерение характеристик пространственного обучения у мышей в тесте Водный Лабиринт Морриса

- с обращенным освещением. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2014;100:36-44.
- Blaha G.R., Raghupathi R., Saatman K.E., McIntosh T.K. Brain-derived neurotrophic factor administration after traumatic brain injury in the rat does not protect against behavioral or histological deficits. *Neuroscience*. 2000;99:483-493.
- Cirulli F., Berry A., Alleva E. Intracerebroventricular administration of brain-derived neurotrophic factor in adult rats affects analgesia and spontaneous behavior but not memory retention in a Morris water maze task. *Neurosci. Lett*. 2000;287:207-210.
- Cirulli F., Berry A., Chairotti F., Alleva E. Intrahippocampal administration of BDNF in adult rats affects short-term behavioral plasticity in the Morris water maze and performance in the elevated plus-maze. *Hippocampus*. 2004;14:802-807.
- Crawley J.N. Behavioral phenotyping strategies for mutant mice. *Neuron*. 2008;57:809-818.
- D'Hoodge R., De Deyn P.P. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res*. 2001;36:60-90.
- Dalm S., Grootendorst J., de Kloet E.R., Oitzl M.S. Quantification of swim patterns in the Morris water maze. *Behav. Res. Meth. Instrum. Comput.* 2000;32:134-139.
- Dalm S., Schwabe L., Schachinger H., Oitzl M.S. Post-training self administration of sugar facilitates cognitive performance of male C57BL/6J mice in two spatial learning tasks. *Behav. Brain Res*. 2009;198:98-104.
- Derdikman D., Moser E.I. A manifold of spatial maps in the brain. D.Derdikman, E.I.Moser. *Trends Cogn. Sci.* 2010;14:561-569.
- Gallagher M., Burwell R., Burchinal M. Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behav. Neurosci.* 1993;107:618-626.
- Kulikov A.V., Fursenko D.V., Khotskin N.V., Bazovkina D.V., Kulikov V.A., Naumenko V.S., Bazhenova E.Y., Popova N.K. Spatial learning in the Morris water maze in mice genetically different in the predisposition to catalepsy: the effect of intraventricular treatment with brain-derived neurotrophic factor. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2014;122:266-272.
- Kulikov A.V., Tikhonova M.A., Kulikov V.A. Automated measurement of spatial preference in the open field test with transmitted lighting. *J. Neurosci. Meth.* 2008;170:345-351.
- Moser E., Moser M.B. Mapping your every move. *Cerebrum*. 2014; 2014:4.
- Moser M.B., Rowland D.C., Moser E.I. Place cells, grid cells, and memory. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015;7(2).
- Naumenko V.S., Kondaurova E.M., Bazovkina D.V., Tsybko A.S., Ilchibaeva T.V., Khotskin N.V., Semenova A.A., Popova N.K. Effect of GDNF on depressive-like behavior, spatial learning and key genes of the brain dopamine system in genetically predisposed to behavioral disorders mouse strains. *Behav. Brain Res*. 2014;274:1-9.
- Noldus L.P.J.J., Spink A.J., Tegelenbosch R.A.J. EthoVision: a versatile video tracking system for automation of behavioral experiments. *Behav. Res. Meth. Instr. Compt.* 2001;33:398-414.
- Spink A.J., Tegelenbosch R.A.J., Buma M.O.S., Noldus L.P.J.J. The EthoVision video tracking system – a tool for behavioral phenotyping of transgenic mice. *Physiol. Behav.* 2001;73:731-744.
- Tandon P., Yang Y., Das K., Holmes G.L., Stafstrom C.E. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in seizures during development. *Neuroscience*. 1999;91(1):293-303.
- Yoon H.G., Chan D.W., Reynolds A.B., Qin J., Wong J. N-CoR mediates DNA methylation-dependent repression through a methyl CpG binding protein Kaiso. *Mol. Cell*. 2003;12(3):723-734.