

# Влияние трифтазина на проявления расстройств аутистического спектра у крыс с фетальным вальпроатным синдромом

Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А., Процун Г.В.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», г. Москва

**Резюме.** На модели фетального вальпроатного синдрома у крыс изучено влияние трифтазина на нарушение социального взаимодействия как основного показателя расстройства аутистического спектра, а также на ориентировочно-исследовательское поведение и способность к обучению животных. Показано, что трифтазин в дозе 0,35 мг/кг не влияет на дефицит социального взаимодействия и показатели пространственного обучения и памяти, но улучшает ориентировочно-исследовательскую активность за счёт снижения тревожности у крыс с фетальным вальпроатным синдромом.

**Ключевые слова:** трифтазин, вальпроевая кислота, фетальный вальпроатный синдром, расстройства аутистического спектра, социальное взаимодействие, тревожность

## Effect of triftazin (trifluoperazine) on the symptoms of autism spectrum disorders in rats with fetal valproate syndrome

Kapitsa I.G., Ivanova E.A., Voronina T.A., Protsun G.V.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

**Resume.** The effect of triftazin (trifluoperazine) on social interaction abnormalities as a main feature of autism spectrum disorders, exploratory behavior and learning capacity was studied in rats with fetal valproate syndrome. It was shown that triftazin at a dose of 0,35 mg/kg does not affect the deficit of social interaction, spatial learning or memory but improves exploratory activity by decreasing anxiety in rats with fetal valproate syndrome.

**Keywords:** triftazin, valproic acid, fetal valproate syndrome, autism spectrum disorders, social interaction, anxiety

Автор, ответственный за переписку:

Капица Инга Геннадиевна — к.б.н., ст. научный сотрудник ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8; e-mail: [ingakap73@mail.ru](mailto:ingakap73@mail.ru)

## Введение

Термин расстройства аутистического спектра (РАС, англ.: ASD — autism spectrum disorders) относится к группе состояний, связанных с нарушением развития нервной системы. Растущая с каждым годом распознаваемость этой группы расстройств, эмоциональное влияние, оказываемое ими на семьи, и связанное с их лечением и социальной помощью бремя финансовых затрат, делают РАС важным заболеванием с точки зрения науки, общественного здравоохранения и защиты прав человека [1, 2]. Сегодня распространение аутизма сравнивают по масштабу с эпидемией, охватившей весь мир, а количество больных детей уже достигает одного на 200 и более [2]. Сегодня распространение аутизма сравнивают по масштабу с эпидемией, охватившей весь мир. По данным ВОЗ 1 из 160 детей в мире страдает РАС [20].

РАС — это расстройство развития, характеризующееся стойким дефицитом способности поддерживать и инициировать социальное взаимодействие и социальные связи (использование вербального и невербального языка), а также ограниченными и стереотипными паттернами поведения. Эти качественные нарушения являются общими чертами индивидуального развития

при РАС и проявляются во всех ситуациях, хотя могут варьировать по степени выраженности.

На сегодняшний день отсутствуют средства патогенетической терапии РАС [3]. Основные усилия терапии РАС направлены на купирование позитивных симптомов болезни, уменьшение когнитивных нарушений, смягчение тяжести аутизма, социальное взаимодействие, стимуляцию развития функциональных систем, создание предпосылок к возможности обучения. Выбор препарата проводится с учётом особенностей психопатологической структуры расстройства, наличия или отсутствия сопутствующих психических, неврологических и соматических нарушений [4]. Трудности проведения психофармакотерапии РАС заключаются, прежде всего, в том, что препараты нового поколения (например, атипичные нейролептики, антидепрессанты) не рекомендованы к применению в детском возрасте по тем или иным причинам (отсутствие апробации препарата, доказательной эффективности и т. д.). Именно поэтому арсенал лекарственных средств для лечения РАС ограничен [4].

Основными группами препаратов, входящих в комплексное лечение РАС, наряду с методами психологической и педагогической коррекции, являются нейролептики, ноотропные препараты (нейроме-

таболические стимуляторы, церебропротекторы), антидепрессанты и транквилизаторы [5].

К основным фармакологическим особенностям нейролептиков относится своеобразное успокоительное действие, сопровождающееся уменьшением реакций на внешние стимулы, ослабление психомоторного возбуждения и аффективной напряженности, подавление чувства страха, ослабление агрессивности [5]. При РАС нейролептики обычно используются для коррекции таких проявлений, как агрессия, аутоагрессия, двигательная расторможенность, страхи, тревожность, стереотипное двигательное возбуждение. Некоторые нейролептики оказывают активирующий эффект, повышают речевую активность, улучшают интеллектуальную продуктивность, на фоне терапии некоторыми из них наблюдается увеличение социальных контактов [5, 6].

Нейролептики фенотиазинового ряда при курсовом применении в малых дозах повышают активность больных, восстанавливают мотивации, интерес к своему состоянию, родным, окружающему, создают стремление к деятельности, увеличивают моторную активность, ослабляют негативные симптомы — аутизм, речевую обедненность [7]. Одним из часто назначаемых нейролептиков фенотиазинового ряда больным с РАС является трифтазин (Трифлюоперазин, тразин, трифтазина-гидрохлорид, эсказин), разрешенный для применения у детей старше 3 лет [5]. Его антипсихотическое действие сочетается с умеренным стимулирующим эффектом.

Целью настоящего исследования является оценка влияния трифтазина на проявление симптомов РАС на модели фетального вальпроатного синдрома у крыс.

## Материалы и методы

Исследования выполнены на самцах крыс линии Вистар, полученных от самок, которым в период беременности вводили вальпроат натрия. Родительское поколение (самки и самцы линии Вистар) были получены из питомника «Столбовая» (Московская область). Организация и проведение экспериментов осуществлялись в соответствии с приказом Минздрава России №199н от 1 апреля 2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Животные содержались в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51.

Расстройства аутистического спектра диагностируются наличием нескольких критериев, в числе которых: нарушение социального взаимодействия; дефицит общения; стереотипное, повторяющееся поведение, настойчивое требование постоянных, одинаковых условий; ограниченность интересов; нарушение когнитивных функций и др.

На основе этих представлений разработаны специальные экспериментальные модели аутизма у живот-

ных, позволяющие воспроизвести нарушения ЦНС в эксперименте, в их числе модель дисфункции нервной системы, вызываемая пренатальным введением тератогенного агента — высокой дозы вальпроевой кислоты (ВПК). Данное воздействие приводит к появлению фетального вальпроатного синдрома (ФВС), который характеризуется комплексом признаков схожими с РАС, в том числе нарушениями в социальном взаимодействии [8–11], и является пригодной для поиска терапевтических агентов для лечения данных расстройств [12]. В высоких дозах (600–800 мг/кг) ВПК и её соли проявляют свойства нейротоксина, вызывая дисфункции нервной системы, описываемые как ФВС у потомства. Воздействие ВПК на эмбрион является причиной дефектов развития нервной трубки [13] и появления таких поведенческих отклонений, как снижение социального взаимодействия (общительности), низкая болевая чувствительность, повышение тревожности и страха у щенят и взрослых животных [9, 10].

ВПК (Sigma-Aldrich Company) вводили однократно внутривентрикулярно в дозе 500 мг/кг самкам крыс линии Вистар на 13-й день гестации. Для получения животных пассивного контроля самкам крыс линии Вистар на 13-й день гестации вводили воду для инъекций в эквивалентном объеме. Новорожденных крысят содержали в одной клетке с самкой до 21-го дня постнатального развития, после чего проводили их отлучение от матери, равномерное распределение по экспериментальным группам. В каждой экспериментальной группе было по 8–10 животных.

С 30 по 35-й дни жизни крысята получали трифтазин в дозе 3,5 мг/кг или воду для инъекций (активный и пассивный контроль) перорально (внутрижелудочно) при помощи зонда однократно ежедневно. В день проведения экспериментов вещества не вводили.

**Тест «Социальное взаимодействие».** Тест нарушения социального взаимодействия широко используется в экспериментальных исследованиях по изучению влияния веществ на проявления РАС. Чаще всего исследования проводят в установке, разделенной прозрачными стенками на три равных отсека [9, 10, 12, 14]. Тестируемое животное помещают в центральный отсек, а в крайние отсеки помещают новые, незнакомые объекты: незнакомую крысу того же пола и возраста и новый несоциальный объект. Оценивают время, проведенное животным в каждом из отсеков, время обследования объектов и число заходов в отсеки в течение 10 мин. По полученным показателям вычисляют коэффициент предпочтения социального объекта по формуле:  $K = B / (A + B)$ , где А — время нахождения животного в отсеке с несоциальным объектом и В — время нахождения тестируемой крысы в отсеке с социальным объектом [15].

**Тест «Открытое поле».** Изучение влияния трифтазина на локомоторную и ориентировочно-исследовательскую активность крысят с ФВС на 36-й день их постнатального развития проводили в установке

«Открытое поле» для мышей (НПК «Открытая Наука», Россия). Установка представляет собой круглую арену диаметром 63 см и высотой стенок – 32 см, пол которой поделён на три ряда секторов (центральный, пристеночный (периферия) и прецентральный – «2/3 поля») и имеет 13 отверстий (норок) диаметром 1 см каждое. Животное помещают в центр поля и в течение 3 мин регистрируют число горизонтальных перемещений, вертикальных движений (стойки), актов поисковой активности (заглядывание в отверстия) и груминга [16]. По полученным показателям вычисляют индекс тревожности (соотношение показателя горизонтальной активности в центральном и прецентральном секторах поля к сумме показателей активности на периферии, прецентральном и центральном секторах поля) [17].

**Тест «У-образный лабиринт».** Исследование рукавов лабиринта (пространственная память) – характерная форма поведения грызунов, в основе которой лежит исследовательская мотивация и способность выбирать для посещения ранее не исследованный рукав. У-образный лабиринт представляет собой установку, состоящую из трёх радиально отходящих от центра под одинаковым градусом рукавов длиной 50 см, шириной 10 см и с высотой стенок 12 см, выполненных из непрозрачного материала. За день до опыта один из рукавов лабиринта закрывают, крысу помещают в один из открытых – «домашний» рукав и в течение 5 мин позволяют животному свободно посещать два открытых рукава («домашний» – А и «альтернативный» – Б). Через 24 ч крысу вновь помещают в центр лабиринта с тремя открытыми рукавами. Регистрируют время пребывания в каждом рукаве и число их посещений в течение 5 мин [18].

**Статистика.** Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью статистических пакетов «BioStat» для Windows, пакета Excel. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Достоверность различий рассчитывали, используя непараметрический анализ для независимых переменных (U-тест Манна–Уитни), критерий Уилкоксона и парный критерий Стьюдента для внутригрупповых сравнений. Различия между группами считали достоверными при  $p < 0,05$ . Результаты в таблицах представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего (Mean  $\pm$  SEM).

## Результаты и обсуждение

Полученные в ходе эксперимента данные подтвердили, что пренатальное введение высокой дозы ВПК вызывает выраженные отклонения в поведении крысят и негативно воздействует на формирование их внутривидовых реакций, что выражалось в снижении социальных контактов, предпочтении несоциального объекта социальному (табл. 1, 2). Так, крысята с ФВС проводили в отсеке с социально значимым объектом на 57,5% меньше времени, чем в отсеке с социально

незначимым объектом; что было в 2,3 раза меньше чем в группе контрольных крыс, продолжительность нахождения которых в отсеке с незнакомого крысой было достоверно больше времени, проведённом в отсеке с социально незначимым объектом (см. табл. 1).

При этом, длительность обследования социального и несоциального объектов крысятами группы «ФВС» не отличались друг от друга, тогда как в контрольной группе без патологии продолжительность обследования социального объекта была в 3,3 раза больше, чем несоциального, что было в 2,7 раза достоверно больше соответствующего показателя группы ФВС (табл. 2).

Терапия трифтазином в дозе 0,35 мг/кг не улучшила показатели социального взаимодействия – время нахождения крыс в отсеке с социальным объектом было лишь на 14,2% больше, чем в отсеке с несоциальным объектом, и коэффициент предпочтения социального объекта недостоверно повысился до 0,49, тогда как в группе «ФВС» он составлял – 0,3 (см. табл. 1), а длительность обследования социального объекта была в 1,5 раза недостоверно больше, чем несоциального объекта (см. табл. 2).

Число заходов в отсеки со значимым и незначимым социальными объектами, а также общая двигательная активность как при межгрупповом, так и при внутригрупповом сравнении, у животных всех групп не отличались (см. табл. 2).

У крысят с ФВС на 36-й день их постнатального развития выявлено нарушение локомоторного и ориентировочно-исследовательского поведения в тесте «Открытое поле». Так, отмечалось значимое снижение горизонтальной двигательной активности по всем регистрируемым показателям: общей двигательной активности (в 1,7 раза), числа перемещений в пристеночной (в 1,5 раза), и особенно, в центральной (в 4 раза), и прецентральной (в 3 раза) зонах установки, по сравнению с показателями контрольной группы крыс. Зарегистрированы достоверное уменьшение на 62,6% вертикальной активности и тенденция к снижению на 39% числа заглядываний в норки (табл. 3). Кроме того, у крысят с экспериментальным РАС индекс тревожности в 3,7 раза отличался от показателя интактных крыс, что в совокупности с ростом числа актов груминга, свидетельствует о повышенной тревожности животных с ФВС (см. табл. 3).

Трифтазин (0,35 мг/кг) оказал положительное влияние на ориентировочно-исследовательское поведение крыс с ФВС, что выразилось в достоверном увеличении в 2,2 раза вертикальной активности, в значимом росте числа пересечений прецентральной части поля и в увеличении на уровне тенденции ( $p < 0,06$ ) общей горизонтальной активности, а также в уменьшении числа актов груминга относительно показателя животных группы «ФВС» (см. табл. 3). Индекс тревожности при введении трифтазина был равен 1,37, что в 2,9 раза отличалось от соответствующего показателя группы крыс с ФВС (см. табл. 3).

Таблица 1

Влияние трифтазина в дозе 0,35 мг/кг на поведение крыс с ФВС на 36-й день постнатального развития в тесте «Социальное взаимодействие» (среднее ± стандартная ошибка среднего)

Группа	Время нахождения в отсеке, с			Коэффициент предпочтения социального объекта: Б/(А+Б)
	с несоциальным объектом (А)	с социальным объектом (Б)	центральном отсеке	
Контроль	162,4 ± 51,5#*	368,2 ± 49,6*	68,7 ± 26,0	0,69 ± 0,1*
ФВС	374,0 ± 83,2	158,9 ± 77,8	66,4 ± 25,5	0,30 ± 0,2
ФВС + Трифтазин	264,5 ± 55,8	308,2 ± 53,9	27,3 ± 6,0	0,49 ± 0,1

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой «ФВС»; # –  $p < 0,05$  относительно времени в отсеке с социальным объектом (внутригрупповое сравнение)

Таблица 2

Влияние трифтазина в дозе 0,35 мг/кг на время обследования социального и несоциального объектов крысами с ФВС на 36-й день постнатального развития в тесте «Социальное взаимодействие» (среднее ± стандартная ошибка среднего)

Группа	Время обследования, с		Времени обследования социального объекта, %	Общая двигательная активность, ед.
	несоциального объекта	социального объекта		
Контроль	71,5 ± 8,7#	234,9 ± 35,3*	72,0 ± 8,4*	10,3 ± 2,0
ФВС	82,3 ± 16,3	86,0 ± 40,0	37,8 ± 14,5	8,2 ± 2,8
ФВС + Трифтазин	75,0 ± 11,6	110,5 ± 14,5	59,6 ± 8,2	9,3 ± 0,5

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой «ФВС»; # –  $p < 0,05$  относительно времени обследования социального объекта (внутригрупповое сравнение)

Таблица 3

Влияние трифтазина в дозе 0,35 мг/кг на поведение крысят с ФВС в условиях теста «Открытое поле» (среднее ± стандартная ошибка среднего)

Группа	Двигательная активность, ед.					Норки, ед.	Грумминг, ед.	Индекс тревожности
	горизонтальная				вертикальная			
	периферия	2/3 поля	центр	общая				
Контроль	65,7 ± 5,5*	10,7 ± 1,0*	1,6 ± 0,3*	78,0 ± 5,7*	15,5 ± 1,5*	9,5 ± 1,2	2,1 ± 0,5*	1,8 ± 0,3*
ФВС	43,0 ± 1,5	3,4 ± 1,2	0,4 ± 0,4	46,8 ± 1,7	5,8 ± 0,9	5,8 ± 1,8	4,4 ± 1,0	0,5 ± 0,4
ФВС + Трифтазин	53,9 ± 5,9	7,6 ± 1,4*	1,3 ± 0,3	62,8 ± 6,4#	12,7 ± 2,2*	5,9 ± 2,0	2,0 ± 0,5*	1,4 ± 0,5

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой «ФВС»; # –  $p < 0,06$  по сравнению с группой «ФВС»

Особенности поведения и пространственной памяти крысят с ФВС изучали в тесте «Y-образный лабиринт». Введение ВПК самкам на 13-й день гестации вызвало у их потомства нарушение свойственного для грызунов пространственного исследовательского поведения, направленного на изучение новых объектов (территорий), что выразилось в предпочтении ранее исследованных рукавов, тогда как в норме животные проявляли исследовательскую активность в большей степени относительно «нового», ранее не исследованного рукава. Так, в контрольной группе крыс продолжительность исследования «нового» рукава лабиринта (С) было в 1,8 раза в виде тенденции больше по сравнению с суммой времени их нахождения в «домашнем» (А) и альтернативном (Б) рукавах. Доля времени, затраченного на исследование «нового»

рукава крысятами пассивного контроля составляла 54,6% (табл. 4).

В группе крыс с ФВС, также как и в группе «Трифтазин», продолжительность исследования «нового» рукава лабиринта (С) была в 1,8 раза достоверно меньше времени нахождения в «домашнем» и альтернативном рукавах. При этом доля времени обследования «нового» рукава «С» животных обеих групп с патологией составляла примерно треть от времени исследования всех рукавов (см. табл. 4).

Во всех группах крыс с ФВС, с терапией Трифтазином и без, наблюдалось гиперактивное поведение, регистрируемое по увеличенному количеству входов в рукава лабиринта по сравнению с контрольной группой. Причём, если в контрольной группе число заходов в новый рукав было в 1,6 раза меньше, то в

Влияние трифтазина на поведение крыс с ФВС в У-образном лабиринте (среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего)

Регистрируемые показатели	Группа		
	контроль	ФВС	ФВС + Трифтазин 0,35 мг/кг
Время нахождения в рукавах А + Б, с	62,5 $\pm$ 9,1	164,8 $\pm$ 9,5*#	147,1 $\pm$ 12,7*#
Время нахождения в рукаве С, с	109,1 $\pm$ 23,2 <i>p</i> < 0,09	93,6 $\pm$ 20,6	81,8 $\pm$ 17,3
Доля времени, в отсеке С, %	54,6 $\pm$ 9,9	35,4 $\pm$ 6,6	35,2 $\pm$ 5,5
Число заходов в рукава А + Б, ед.	3,6 $\pm$ 0,4#	9,0 $\pm$ 0,6*#	8,0 $\pm$ 0,5*#
Число заходов в рукав С, ед.	2,2 $\pm$ 0,3	3,9 $\pm$ 0,5*	4,1 $\pm$ 0,4*
Общее число переходов, ед	5,9 $\pm$ 0,8	12,9 $\pm$ 1,5*	12,1 $\pm$ 1,2*

Примечание: \* – *p* < 0,05 по сравнению с группой «Контроль»; # – *p* < 0,05 относительно времени в рукаве «С» (числа заходов в рукав «С»), внутригрупповое сравнение

группах «ФВС» и «ФВС + Трифтазин» – в 2,3 и 1,95 раза меньше, соответственно, чем сумма числа заходов в «домашний» и «альтернативный» рукава (см. табл. 4). Полученные данные хорошо согласуются с данными литературы. Показано, что животным с экспериментальной патологией РАС свойственна стресс-индуцированная стереотипия с фризинговым поведенческим паттерном в новой незнакомой ситуации и смена поведенческих актов на повышение локомоторной активности в знакомой, ранее исследо-

ванной обстановке [9, 19]. Трифтазин (0,35 мг/кг) не улучшал показатели, регистрируемые в тесте «У-образный лабиринт».

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что трифтазин в дозе 0,35 мг/кг не уменьшает дефицит социального взаимодействия и не улучшает интеллектуальную продуктивность, но улучшает показатели ориентировочно-исследовательской активности за счёт снижения тревожности у крыс с фетальным вальпроатным синдромом.

## Литература

1. IACAPAP Textbook of Child and Adolescent Mental Health. Autism spectrum disorder 2015; 2: 1–38.
2. Wallace S., Fein D., Rosanoff M., et al. A global public health strategy for autism spectrum disorders. *Autism Res.* 2012; 5 (3): 211–217.
3. Психиатрия детского и подросткового возраста под ред. Гиллберга К., Хеллгрена Л., рус. изд. / под общ. ред. акад. РАМН Сидорова П.И. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004; 544.
4. Симашкова Н.В. Эффективная фармакотерапия и реабилитация больных с расстройствами аутистического спектра. *Неврология и психиатрия* 2011; 3: 14–22.
5. Шапошникова А.Ф. Медикаментозное лечение при детском аутизме. Аутизм и нарушение развития. 2008; 3:43–48.
6. Doyle C.A., McDougle C.J. Pharmacologic treatments for the behavioral symptoms associated with autism spectrum disorders across the lifespan. *Dialogues Clin Neurosci.* 2012; 14: 263–279.
7. Венгеровский А.И. Лекции по фармакологии для врачей и провизоров. М.: Физматлит. 2007; 3-е изд. 199–210.
8. Chomiak T., Turner N., Hu B. What we have learned about autism spectrum disorder from valproic acid. *Pathology Research International* 2013; 2013: 712–758.
9. Kerr D.M., Downey L., Conboy M., et al. Alterations in the endocannabinoid system in the rat valproic acid model of autism. *Behavioural Brain Research* 2013; 249:124–132.
10. Gottfried C., Bambini-Junior V., Baronio D., et al. Valproic Acid in Autism Spectrum Disorder: From an Environmental Risk Factor to a Reliable Animal Model. In: *Recent Advances in Autism Spectrum Disorders*. InTech, Chapters published. 2013; 1. Ch.8.: 143–163.
11. Silverman J.L., Yang M., Lord K., Crawley J.N. Behavioral phenotyping assay for mouse models of autism. *Nat Rev Neurosci.* 2010;11 (7):490–502.
12. Foley A.G., Gannon S., Rombach-mullan N., et al. Class I histone deacetylase inhibition ameliorates social cognition and cell adhesion molecule plasticity deficits in a rodent model of autism spectrum disorder. *Neuropharmacology* 2012;63(4):750–760.
13. Ingram J.L., Peckham S.M., Tisdale B., Rodier P.M. Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism. *Neurotoxicology and Teratology* 2000; 22: 319–324.
14. Crawley J.N. Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* 2004; 10: 248–58.
15. Kaidanovich-Beilin O., Lipina T., Vukobradovic I., Roder J., Woodgett J.R. Assessment of Social Interaction Behaviors. *J. Vis. Exp.* 2011; 48: 2473.
16. Островская Р.У., Раевский К.С., Воронина Т.А. и др. в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» Часть 1, Москва, изд-во «Гриф и К» ФГБУ «НЦЭМСП» Минздрава России, 2012; 251–263.
17. Калинина Т.С., Шимширт А.А., Кудряшов Н.В. и др. Нейростероидогенез и ориентировочно-исследовательское поведение грызунов. *Экспер. и клин. фармак.* 2014; 77 (2): 3–7.
18. Yusuf S, Adelaiye A, Agunu A. Effect of Ziziphus mauritania (L.) seed extracts on spatial recognition memory of rats as measured by the Y-maze test. *Journal of Natural Products.* 2009; 2: 31–39.
19. Iwata K., Izumo N., Matsuzaki H., et al. Vldlr overexpression causes hyperactivity in rats. *Molecular Autism* 2012; 3: 11.