

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ФЕНАЗЕПАМОМ НАРУШЕНИЙ У РЫБ *DANIO RERIO* ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕРВНОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ ПРИ СТРЕССЕ С ХИЩНИКОМ

Г.П. Косякова, А.А. Блаженко, А.А. Лебедев

ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург

PHARMACOLOGICAL CORRECTION BY PHENAZEPAM OF DISORDERS IN INTERACTION OF NERVOUS AND IMMUNE SYSTEMS DURING PREDATOR STRESS IN *DANIO RERIO*

G.P. Kosyakova, A.A. Blazhenko, A.A. Lebedev

Research Institute of Experimental Medicine SZO RAMS, Saint Petersburg, Russia

Исследовалось поведение рыб *Danio rerio* в контроле при стрессе (моделирование психической травмы) и с препаратом аксиолитиком «феназепамом». С препаратом феназепамом — транквилизатором — рыбы успокаиваются и всплывают на верх аквариума. Обычно эту рыбку использовали в исследованиях в области молекулярной генетики и биологии развития, однако в последнее время она становится привлекательной в работах по созданию новых лекарственных препаратов и моделированию различных физиологических и патологических процессов. *Danio rerio* является модельным организмом в биологии развития. Большинство генов человека имеют гомологи у зебра фиш (70–80 %), а функциональные домены киназ 100 % идентичность. Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось соответствует таковой у человека. Целью нашей работы является определение нейропептидов в головном мозге *Danio rerio* после стрессорных воздействий и применения феназепамом.

Ключевые слова: поведение; рыбы *Danio rerio*; хищник; стресс; препарат феназепам; транквилизатор; аксиолитик; моделирование психической травмы; витальный стресс.

The behavior of *Danio rerio* fish under stress control (mental trauma modeling) and with the axiolytic drug phenazepam was studied. With the drug phenazepam — tranquilizer fish calm down and float to the top of the aquarium. Typically, this fish was used in research in the field of molecular genetics and developmental biology, but recently it has become attractive in the work on the creation of new drugs and the modeling of various physiological and pathological processes. *Danio rerio* is a model organism in developmental biology. Most human genes have homologs in zebra fish (70%–80%), and functional kinase domains have 100% identity. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis corresponds to that in humans. The aim of our work is to determine the neuropeptides in the brain of *Danio rerio* after stress effects and the use of phenazepam.

Keywords: behavior; *Danio rerio* fish; predator; stress; drug phenazepam; tranquilizer; axiolytic; trauma modeling, vital stress.

Введение. Иммунологи и нейробиологи используют не только мышей и крыс для опытов по изучению взаимодействия нервной и иммунной систем при стрессе с хищником, а также поведенческие механизмы, но и рыб *Danio rerio*. Представители данного вида малы, имеют многочисленное потомство (одна самка откладывает до трех сотен икринок за сезон), и поэтому не составляет труда содержать в лаборатории необходимое количество экспериментальных рыб. Что касается их генома, то он легко поддается изменению и это имеет решающее значение при определении генных изменений, влияющих на психику. Мозг человека и двухсантиметровой рыбки настолько схожи, что появляется возможность изучить влияние различных факторов на поведение рыб с точки зрения аналогичного влияния тех же факторов на поведение [1]. Нужно заметить, что клетки эритроцитов у рыб ядерные.

Материал и методы. Наши опыты по поведению проводили на рыбе *Danio rerio* в течение 4 месяцев в 2018 году. Рыбу *Danio rerio* разбили на 4 группы: контроль, группа с препаратом феназепамом — транквилизатором и аксиолитиком, а также изучали в третьей группе проявления стресса с хищником и четвертую группу рыб исследовали с феназепамом + хищником. В начале контрольную группу рыб помещали в специальный размеченный контейнер затем с помощью определенной программы и видеокамеры в течение 6 минут осуществлялась запись движения рыбы. Далее происходил анализ данных по 6 пунктам: 1. Время без движения рыбы. 2. Количество раз сколько раз рыба замирала. 3. Количество раз сколько рыба проходила границу со дна на верх аквариума. 4. Время проведенное наверху аквариума. 5. Время на дне. 6. Общая дистанция сколько рыба проплыла. Также мы делали

Частота аномальных клеток периферической крови, полученных от рыб в контроле, при стрессе с хищником, с препаратом феназепамом и с феназепамом + хищником $n = 20$

Номер группы $n = 20$	Частота эритроцитов с интерфазными мостами, %	Частота эритроцитов с микроядрами, %	Частота эритроцитов с интерфазными хвостами, %
Контроль	$0,68 \pm 0,116$	$1,08 \pm 0,139$	$0,84 \pm 0,093$
С хищником	$0,86 \pm 0,093$	$1,66 \pm 0,202^*$	$1,02 \pm 0,107$
Феназепам	$0,74 \pm 0,145$	$1,0 \pm 0,101$	$0,98 \pm 0,116$
Феназепам + хищник	$0,80 \pm 0,084$	$1,06 \pm 0,143$	$1,04 \pm 0,102$

Примечание. ЧЭМ — частота эритроцитов с микроядрами. ЧЭИМ — частота эритроцитов с интерфазными мостами. ЧЭИХ — частота эритроцитов с интерфазными хвостами. * $p < 0,05$ по отношению к контролю, и к группе с препаратом феназепам.

мазки периферической крови для исследования на цитогенетический мониторинг клеток рыб с препаратом и без него при стрессе. Изучали 20 особей рыб *Danio rerio*. А также наблюдали влияние хищника на отклонение от нормы количество интерфазных клеток с аномальными ядрами. А также в наши опыты добавили морфологию крови рыб для определения генотоксичности препарата.

Результаты и их обсуждение. При сравнении данных контрольной группы с группой рыб которые перед записью находились 5 минут в аквариуме с хищником (моделирование психической травмы) мы использовали средние значения и получили, что после хищника, если можно так выразиться, опираясь на данные анализа, рыбы были более возбужденными, что проявлялось в увеличении времени проведенного на верху аквариума, соответственно снижения проведенного времени на дне, число переходов со дна на верх аквариума и снижение количество замираний рыб (то есть нахождения без движения).

В таблице 1 представлены зависимости частот эритроцитов рыб с интерфазными мостами в периферической крови от частот метафаз с разбросанными хромосомами и метафаз с отстающими хромосомами. Видно, что клетки рыб с хищником имеют ($p < 0,05$) достоверно выше ЧЭМ поэтому характеризуется значительно

меньшой частотой клеток с нормальной формой ядра в эритроцитах. Наибольшее количество хвостатых ядер появляется в группе рыб с хищником $1,02 \pm 0,107$ и в группе с феназепамом + хищником $1,04 \pm 0,102$ так как у рыб наблюдается тревога.

Выводы. Обычно хвосты и микроядра появляются при отстаивании хромосом и их фрагментов в митозе по сравнению с контролем и препаратом феназепам. С повышенными ЧЭМ ($p < 0,05$) соответственно, различия достоверны U -критерием Вилкоксона – Мана – Уитни). «Хвосты» представляли тонкие нити хроматина, в большинстве случаев оканчивающиеся терминальным утолщением тела «хвоста» в виде микроядра округлой формы иногда встречались «хвосты» без терминальных расширений [2]. Размер наблюдаемых «хвостов» варьировал от 2 до 7 мкм. Таким образом, интерфазное ядро с полумостом напоминало аномалию типа «хвостатого» ядра. Поэтому в данной работе мы изучили особенности фармакотерапии тревожно-депрессивных состояний при гормональных дисфункциях с хищником. При стрессе с хищником изменяются кортикостероны, которые действуют отрицательно на гомеостаз клеток кроветворения, с появлением аномальных ядер в клетках периферической крови при митозе. Поэтому при стрессе необходимо изучать цитогенетический мониторинг рыб и его влияние на живой организм.

Литература

1. Есауленко А.Н., Курапов А.А., Гаврилов Б.А, Косякова Г.П. Цитогенетический мониторинг рыб Каспийского бассейна // «Проблемы морфологии»: материалы Всероссийской конференции. – Сочи, 14–16 мая 2002. – С. 23.
2. Есауленко А.В., Косякова Г.П. Цитогенетическое изучение кроветворных клеток рыб каспийского бассейна // «Актуальные проблемы генетики»: материалы 2-й конференции московского общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова, посвященной 115-летию со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Москва, 20–21 февраля 2003. – Т. 1. – С. 342–343.