

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ВЛИЯНИЯ АНТИДЕПРЕССАНТОВ РАЗНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП НА ПОВЕДЕНИЕ ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ *DANIO RERIO*

УДК 615.214.32

<https://doi.org/10.7816/RCF18151-56>

© К.Е. Левикин, Д.А. Качанов, Г.Я. Лапкина, А.А. Слобожанин, А.В. Павлыш

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Левикин К.Е., Качанов Д.А., Лапкина Г.Я., и др. Сравнительные эффекты влияния антидепрессантов разных фармакологических групп на поведение взрослых особей *Danio rerio*. – 2020. – Т. 18. – № 1. – С. 51–56. <https://doi.org/10.7816/RCF18151-56>

Поступила: 17.01.2020

Одобрена: 14.02.2020

Принята: 19.03.2020

В последние несколько лет депрессивные расстройства — одна из глобальных проблем современного общества. Многие вопросы, относящиеся к данной тематике, до сих пор остаются открытыми для обсуждения. Достоверно известно, что тропические рыбки *Danio rerio* (zebrafish) являются наиболее изученным и практичным модельным объектом доклинических исследований. Они имеют ряд преимуществ по сравнению с различными представителями данного класса и даже другими лабораторными животными. В связи с разнообразием и высокой степенью развития нейронов, экспрессирующих различного рода нейротрансмиттеры, *Danio rerio* отлично подходят для моделирования стресса и депрессии с последующей оценкой медикаментозного устранения проявлений данного состояния. **Цель.** Выявление и оценка различий в поведении у рыб *Danio rerio* при воздействии неселективных антидепрессантов и селективных ингибиторов обратного захвата серотонина. **Методы.** В данном исследовании была использована модель погружения груп-

пы *Danio rerio* в состояние стресса и депрессии путем острого воздействия кофеином и последующего применения антидепрессантов со своевременной регистрацией и обработкой полученных результатов. **Результаты.** Воздействие сертралина на группу *Danio rerio* с целью выведения из состояния стресса и депрессии оказалось более эффективным в сравнении с полученными результатами применения в качестве антидепрессанта амитриптилина. **Выводы.** Сертралин в терапевтической концентрации обладает большей скоростью выведения из состояния тревоги и депрессии, что в свою очередь позволяет утверждать о его большей эффективности. Во врачебной практике лучше назначать препараты группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина с целью достижения более быстрого эффекта.

◆ **Ключевые слова:** стресс; депрессия; *Danio rerio*; zebrafish; нейротрансмиттеры; антидепрессанты; сертралин; амитриптилин.

COMPARATIVE EFFECTS OF ANTIDEPRESSANTS OF VARIOUS PHARMACOLOGICAL GROUPS ON THE BEHAVIOR OF ADULT *DANIO RERIO*

© К.Е. Levikin, D.A. Kachanov, G.Ya. Lapkina, A.A. Slobozhanin, A.V. Pavlysh

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

For citation: Levikin KE, Kachanov DA, Lapkina GYa, et al. Comparative effects of antidepressants of various pharmacological groups on the behavior of adult *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2020;18(1):51-56. <https://doi.org/10.7816/RCF18151-56>

Received: 17.01.2020

Revised: 14.02.2020

Accepted: 19.03.2020

The depressive disorders remain one of the global problems of modern society. Many issues related to this topic remain open for discussion. It is reliably known that tropical fish *Danio rerio* (zebrafish) are the most studied and practical model methods of preclinical studies. They have several advantages over other laboratory animals. *Danio Rerio* is great for modeling stress and depression in order to identify the manifestations of medication to identify the manifestations of this condition. **Methods.** *Danio Rerio* when exposed to non-selective antidepressants and related serotonin reuptake inhibitors. *Danio Rerio* is under stress and depression due to acute exposure to caffeine and the subsequent use of antidepressants with timely recording

and processing of the results. **Results.** The effect of sertraline on the *Danio rerio* group in order to identify the state of stress and depression was more effective in comparison with the results obtained using amitriptyline as an antidepressant. **Conclusions.** Sertraline in therapeutic concentration has a greater rate of elimination from anxiety and depression, which in turn allows us to argue about its greater effectiveness. In medical practice, it is better to prescribe drugs of the group of selective serotonin reuptake inhibitors in order to achieve a faster effect.

◆ **Keywords:** stress; depression; *Danio rerio*; zebrafish; neurotransmitters; antidepressants; sertraline; amitriptyline.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях современного общества проблема стресса различного характера занимает одно из важнейших мест в жизни человека. Существует концепция, которая подчеркивает также роль ранних стрессов в этиологии депрессивных расстройств [1, 2].

Депрессия — распространенное в разных возрастных группах психическое расстройство, характеризующееся патологически сниженным настроением с негативной, пессимистической оценкой самого себя. Доказано, что стрессы и хроническая депрессия приводят к нарушениям функционирования головного мозга, активизации одних центров и торможению других [1, 3]. По своим социально-экономическим последствиям депрессии намного опережают остальные формы психических расстройств и характеризуются «депрессивной триадой»: снижение настроения и утрата способности переживать радость, нарушение мышления, двигательная заторможенность [2, 3].

На сегодняшний день принципы лечения стресса и депрессии разнообразны. Чаще применяют медикаментозную терапию и специальную психологическую практику. Однако вопросы об эффективности тех или иных препаратов до сих пор остаются открытыми [1–3].

Психотерапия депрессий — одно из более динамических исследовательских направлений в рамках психиатрической науки, что связано с интенсивным синтезом новых антидепрессантов и прогрессом в изучении клиники и патогенеза аффективных расстройств. Считается, что расширение арсенала антидепрессантов связано, с одной стороны, с их востребованностью обществом из-за широкого распространения депрессивных состояний, с другой, — сложностью достижения терапевтического результата при примерно равной их эффективности [2].

Ни для кого не секрет, что прежде чем перейти к практическому использованию, все лекарственные средства проходят череду доклинических, а затем и клинических исследований. Лабораторные животные как экспериментальные модели являются неоценимым инструментом для исследования патогенеза различных депрессивных расстройств и создания их потенциального лечения. Перспективным направлением в фармакологии стало использование в качестве экспериментальной модели депрессии аквариумной рыбки *Danio rerio* (zebrafish). Благодаря детальной изученности эмбриогенеза, генома, морфологических особенностей и минимальности затрат на содержание zebrafish может применяться в биологических, генетических, фармакологических исследованиях и скрининге при мутагенезе, оценке тератогенности и другого воздействия химических веществ [4].

Целью настоящего исследования являлось выявление и оценка различий в поведении у рыбок *Danio rerio* при воздействии неселективных антиде-

прессантов и селективных ингибиторов обратного захвата серотонина. В качестве используемых антидепрессантов был выбран амитриптилин, который является золотым стандартом в лечении депрессивных расстройств, сопровождающихся явлениями ажитации. Вторым препаратом выбран сертралин, который на сегодняшний день также довольно часто используется в практической деятельности.

Задачи исследования состояли в подтверждении возможности использования модели *Danio rerio* в доклинических исследованиях психоактивных веществ; сравнительном анализе влияния различных антидепрессантов на поведение zebrafish; выявлении наиболее эффективной группы применяемых антидепрессантов.

Преимущества моделирования стрессового состояния и депрессии на рыбках *Danio rerio* (zebrafish). Развитие *ex utero* и оптическая прозрачность эмбрионов в процессе эмбриогенеза позволяет проводить визуальный анализ эмбрионов на разных стадиях развития.

На сегодняшний день полностью изучены этапы формирования нервной системы у zebrafish:

- к концу гастрюляции (приблизительно 10 ч с момента оплодотворения икры) нервная пластинка становится отчетливо отличимой от остальной части эктодермы, а спустя некоторое время она образует нервную трубку;
- к концу первых суток от момента оплодотворения выявляются подразделения структур центральной нервной системы, а именно: передний мозг, средний мозг, задний мозг и спинной мозг. Параллельно с выявлением подразделений в их структуре происходит формирование ранних скоплений нейронов, а также происходит постепенное распространение аксональных участков в периферическом направлении тела эмбриона (личинки);
- к концу вторых — началу третьих суток от момента оплодотворения в структурах нервной системы выявляется значительное количество нейронов, экспрессирующих различного рода нейротрансмиттеры. К данным нейронам относятся: ГАМК-ергические, моноаминергические (экспрессирующие DA, A, NA, 5HT, Gist), холинергические и пептидергические нейроны;
- к концу четвертых суток обнаруживаются глиальные подтипы, такие как олигодендроциты, клетки Шванна, астроциты и мн. др.

В сравнении с млекопитающими *Danio rerio* отличаются слабо развитой корой конечного мозга. Однако наибольшей схожестью среди структур головного мозга обладают гиппокамп, миндалевидное тело и базальный ганглий [5].

На сегодняшний день *Danio rerio* активно используются во многих направлениях научной деятельности: в качестве индикатора загрязнения водоемов, для оценки токсичности фармакологических препаратов, разработки транспортных лекарственных си-

стем, а также в качестве модельного объекта постановки стресса новизны и депрессии [6–8]. Учитывая эти данные, можно говорить, что *Danio rerio* в полной мере могут использоваться в качестве модельного объекта в доклинических исследованиях заболева- ний нервной системы [9, 10].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на взрослых особях *Danio rerio* природного окраса ($n = 36$).

Известно, что в стандартных условиях обитания zebrafish образуют стаи (косяки), в аквариуме занимают преимущественно верхнюю и реже среднюю зоны плавания [4, 6]. Как правило, отсутствует агрессивное поведение по отношению друг к другу, и достаточно редко встречаются явления фризинга (замирания) [6, 8].

В ходе эксперимента рыбки были разделены на 5 групп (1 контрольная ($n = 4$) и 4 основных ($n = 8$), содержащие по 2 подгруппы) (рис. 1)

Известно, что острое воздействие кофеина на аденозиновые рецепторы оказывает надежный анксиогенный эффект. Блокируя аденозиновые рецепторы A1 достигается состояние тревожности, а блокада рецепторов A2 оказывает тормозное влияние на структуры центральной нервной системы [1, 5].

С помощью воздействия кофеином в концентрации 100 мг/л у *Danio rerio* моделировали состояние тревоги и депрессии, которое оценивали по следующим параметрам: общее время пребывания на нижнем уровне плавания, общее время пребывания на верхнем уровне плавания и время подъема с нижнего на верхний уровень плавания от начала эксперимента.

Контрольная группа находилась в емкости, содержащей кофеин в концентрации 100 мг/л в течение 30 мин, после чего помещалась в аквариум (объем 20 л, при следующих условиях: температура воды 25–27 °С, стандартная аэрация, pH 6.5, dH 11°, ежедневная подмена 15 % объема воды), где проводилась видеосъемка с последующей обработкой полученных данных.

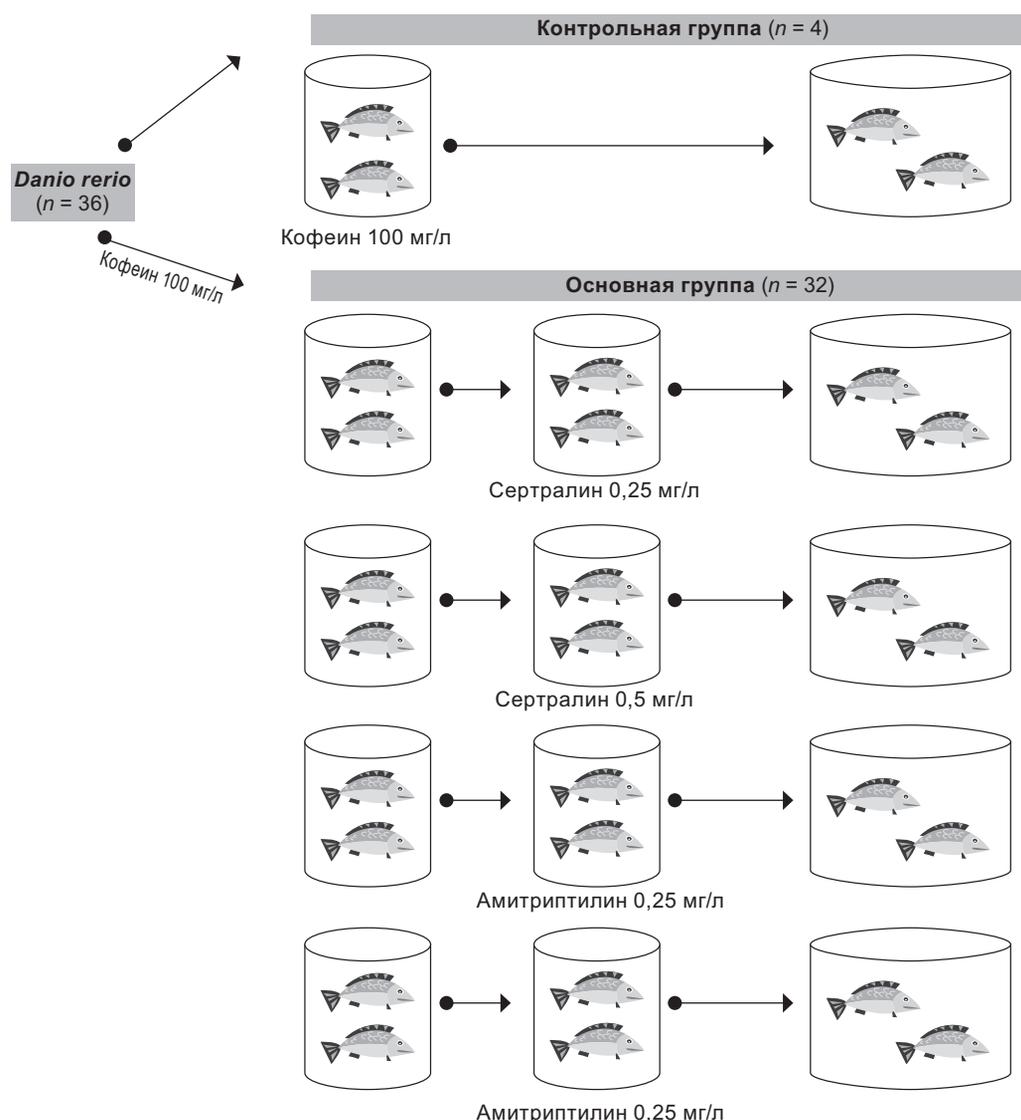


Рис. 1. Дизайн исследования

Основные группы первоначально также находились в емкости, содержащей кофеин, после чего помещались на 30 мин в другие емкости, содержащие препарат в разных концентрациях. Далее животных из контрольной группы пересаживали в аквариум. Полученные данные также фиксировались при помощи видеосъемки и затем обрабатывались.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Контрольная группа. Анализируя результаты контрольной группы, подверженной острому воздействию кофеина, отчетливо видно, что *Danio rerio*

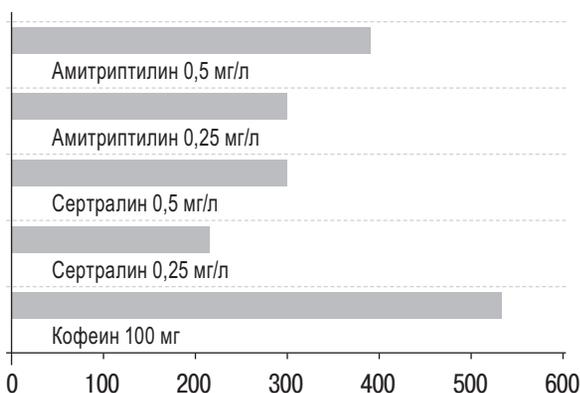


Рис. 2. Время нахождения на нижнем уровне плавания

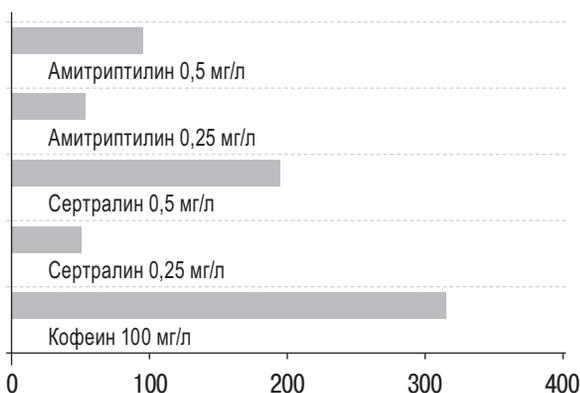


Рис. 3. Время подъема на верхний уровень

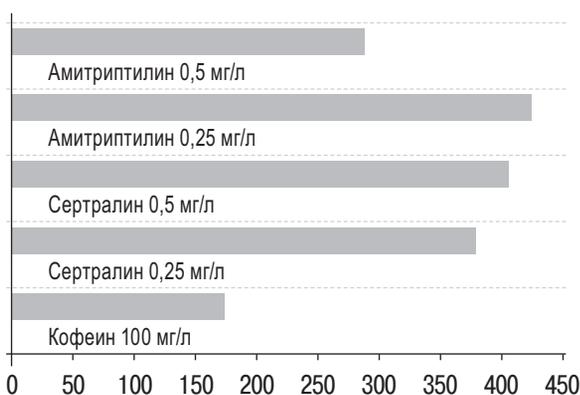


Рис. 4. Нахождение на верхнем уровне плавания

находятся в стойком тревожном состоянии, о чем свидетельствуют:

- наиболее длительный период пребывания на нижнем уровне плавания (рис. 2);
- более медленный переход с нижнего уровня на верхний (рис. 3);
- самый короткий период нахождения на верхнем уровне плавания (рис. 4).

На основании трех значимых показателей можно утверждать, что острое воздействие кофеином производит надежный анксиогенный эффект.

Амитриптилин. При сравнении двух концентраций амитриптилина было замечено, что воздействие препарата в дозировке 0,25 мг/л в сравнении с 0,5 мг/л вызывает:

- меньшую продолжительность пребывания на нижнем уровне плавания;
- более скорый период перехода с нижнего уровня плавания на верхний;
- более длительный период плавания на верхнем уровне.

Полученные результаты позволяют нам достоверно утверждать, что терапевтической концентрацией исследуемого препарата является дозировка 0,25 мг/л.

Сертралин. В группах, подверженных воздействию сертралина, также выявляется тенденция к более быстрому переходу на верхний уровень плавания в сравнении с контрольной группой, а также более длительный период пребывания на нем. Среди двух исследуемых концентраций терапевтической дозировкой также оказалась 0,25 мг/л. Это подтверждают следующие полученные результаты:

- меньший период нахождения на нижнем уровне;
- более быстрый переход с нижнего уровня плавания на верхний.

Стоит отметить, что продолжительность пребывания групп рыб на верхнем уровне плавания при обеих концентрациях оказалась близка по значению, что не позволяет нам судить о большей эффективности дозировки 0,5 мг/л.

Сравнение терапевтических доз используемых представителей двух групп антидепрессантов.

Чтобы выявить наиболее эффективную группу антидепрессантов, мы провели сравнительную оценку терапевтических концентраций амитриптилина и сертралина по выделенным нами ранее параметрам (см. таблицу). Было выявлено, что:

- наиболее коротким периодом нахождения на нижнем уровне плавания отличается группа *Danio rerio*, подверженная воздействию сертралина;
- наиболее скорым оказался переход группы, получающей сертралин;
- наиболее продолжительным периодом пребывания на верхнем уровне плавания обладает группа, которая получала амитриптилин.

Суммарным продолжительным периодом пребывания на верхнем и среднем уровнях плавания (что свидетельствует о меньшей возможности нахождения в состоянии тревоги и депрессии) также отлич-

■ Результаты, полученные по определяемым параметрам

Уровень / группа	Кофеин 100 мг	Сертралин 0,25 мг	Сертралин 0,5 мг	Амитриптилин 0,25 мг	Амитриптилин 0,5 мг
Верхний уровень плавания, с	173	375,5	402	423	287,5
Средний уровень плавания, с	199	315	389	176,5	215,5
Нижний уровень плавания, с	528	209,5	301	300,5	397
Время, прошедшее до момента подъема на верхний уровень (при нахождении на нем не менее 5 с), с	323	38	196	41,5	88

лась группа, подверженная воздействию сертралина 0,5 мг/л в сравнении с амитриптилином 0,25 мг/л (691 с против 599 с).

С целью подтверждения выделенных параметров был проведен статистический анализ всех полученных результатов с использованием программы SPSS (*U*-критерий Манна – Уитни). По результатам анализа все полученные данные оказались статистически значимыми.

ВЫВОДЫ

В результате проделанной работы была подтверждена возможность применения *Danio rerio* в качестве модельного объекта доклинических исследований заболеваний, проявляющихся дисфункцией нервной системы.

Был проведен сравнительный анализ двух различных групп антидепрессантов и выявлена следующая тенденция: сертралин в терапевтической концентрации обладает большей скоростью выведения из состояния тревоги и депрессии, что в свою очередь позволяет утверждать о его большей эффективности.

Во врачебной практике лучше назначать препараты группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина с целью достижения более быстрого терапевтического эффекта.

ЛИТЕРАТУРА

- Egan RJ, Bergner CL, Hart PC, et al. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. *Behav Brain Res.* 2009;205(1):38-44. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.06.022>.
- Dubovsky SL. What Is New about New Antidepressants? *Psychother Psychosom.* 2018;87(3):129-139. <https://doi.org/10.1159/000488945>.
- Герасимов А.А. Лечение депрессии методом электростимуляции. Устранение депрессии и неврозов / Сборник тезисов конференции «Онкология – XXI век»; Тбилиси, 6–12 мая 2017 г. – Пермь, 2017. – С. 64–66. [Gerasimov AA. Lechenie depressii metodom elektrostimulyatsii. Ustranenie depressii i nevrozov. In: Proceedings of the conference “Onkologiya – XXI vek”; Tbilisi, 6–12 May 2017. Perm'; 2017. P. 64-66. (In Russ.)]
- Качанов Д.А. Моделирование депрессии на взрослых особях *Danio rerio* и фармакологическая оценка влияния селективных ингибиторов обратного захвата серотонина / Сборник тезисов V Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием «VOLGAMEDSCIENCE»; Нижний Новгород, 13–14 марта 2019 г. – Нижний Новгород; 2019. — С. 356–357. [Kachanov DA. Modelirovanie depressii na vzroslykh osobyakh Danio rerio i farmakologicheskaya otsenka vliyaniya selektivnykh inhibitorov obratnogo zakhvata serotonina. In: Proceedings of the V All-Russian conference of young scientists and students with international participation “VOLGAMEDSCIENCE”; Nizhny Novgorod, 13–14 March 2019. Nizhny Novgorod; 2019. P. 356-357. (In Russ.)]
- Guo S. Using zebrafish to assess the impact of drugs on neural development and function. *Expert Opin Drug Discov.* 2009;4(7):715-726. <https://doi.org/10.1517/17460440902988464>.
- Качанов Д.А., Лакеенков Н.М., Левикин К.Е., и др. *Danio rerio* (Zebrafish) как универсальный модельный объект в доклинических исследованиях // *Forcipe.* — 2018. – Т. 1. – № 1. – С. 49–54. [Kachanov DA, Lakeenkov NM, Levikin KE, et al. *Danio rerio* (zebrafish) – an universal model object in preclinical studies. *Forcipe.* 2018;1(1):49-54. (In Russ.)]
- Souza JP, Baretta JF, Santos F, et al. Toxicological effects of graphene oxide on adult zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat Toxicol.* 2017;186:11-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.02.017>.
- Блаженко А.А., Качанов Д.А., Прошин С.Н. Доклиническое исследование нуклеоспермата натрия на модели *Danio rerio* / Сборник тезисов Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием «Мечниковские чтения-2018»;

- Санкт-Петербург, 25–26 апреля 2018 г. — СПб., 2018. — С. 630–631. [Blazhenko AA, Kachanov DA, Proshin SN. Doklinicheskoe issledovanie nukleospermata natriya na modeli *Danio rerio*. In: Proceedings of the all-Russian scientific and practical student conference with international participation “Mechnikov readings-2018”; Saint Petersburg: 25–26 Apr 2018. Saint Petersburg; 2018. P. 630–631. (In Russ.)]
9. Блаженко А.А., Качанов Д.А., Прошин С.Н. Исследование гормонопрепаратов на модели *Danio rerio* (Zebrafish) / Сборник тезисов Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием «Мечниковские чтения-2018»; Санкт-Петербург, 25–26 апреля 2018 г. — СПб., 2018. — С. 633–634. [Blazhenko AA, Kachanov DA, Proshin SN. Issledovanie gormonopreparatov na modeli *Danio rerio* (Zebrafish). In: Proceedings of the all-Russian scientific and practical student conference with international participation “Mechnikov readings-2018”; Saint Petersburg: 25–26 Apr 2018. Saint Petersburg; 2018. P. 633–634. (In Russ.)]
10. Шабанов П.Д., Лебедев В.А., Лебедев А.А., Бычков Е.Р. Влияние стресса новизны на поведенческие ответы *Danio rerio* и оценка дозозависимых эффектов анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере феназепам // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. — 2017. — Т. 15. — № 3. — С. 57–63. [Shabanov PD, Lebedev VA, Lebedev AA, Bychkov ER. Effect of novelty stress on behavioral responses of *Danio rerio* and assessment of dose-dependent effects of anxiolytics of benzodiazepine structure with phenazepam as an example. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(3):57–63. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/RCF15357-63>.

♦ Информация об авторах

Кирилл Евгеньевич Левикин — студент 4-го курса лечебного факультета, лаборант кафедры фармакологии и фармации. ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: Kirill.Levikin@szgmu.ru.

Дмитрий Александрович Качанов — студент 6-го курса лечебного факультета, заведующий лабораторией кафедры фармакологии и фармации. ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: Dmitrii.Kachanov@szgmu.ru.

Галина Яковлевна Лапкина — канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии и фармации. ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: Galina.Lapkina@szgmu.ru.

Александр Александрович Слобозханин — канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии и фармации. ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: A.Slobozhanin@szgmu.ru.

Андрей Владиславович Павлыш — д-р мед. наук, заведующий кафедрой фармакологии и фармации. ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: Andrei.Pavlysh@szgmu.ru.

♦ Information about the authors

Kirill E. Levikin — 4th year Student, Faculty of General Medicine, Laboratory Assistant, Department of Pharmacology and Pharmacy. North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Kirill.Levikin@szgmu.ru.

Dmitrii A. Kachanov — 6th year Student, Faculty of General Medicine, Head of the Laboratory, Department of Pharmacology and Pharmacy. North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Dmitrii.Kachanov@szgmu.ru.

Galina Ya. Lapkina — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Department of Pharmacology and Pharmacy. North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Galina.Lapkina@szgmu.ru.

Alexandr A. Slobozhanin — PhD (Pharmacology), Assistant Professor, Department of Pharmacology and Pharmacy. North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: A.Slobozhanin@szgmu.ru.

Andrei V. Pavlysh — Dr. Med. Sci., Head of the Department of Pharmacology and Pharmacy. North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. E-mail: Andrei.Pavlysh@szgmu.ru.