

УДК 616-092.9

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF321976>

Научная статья



## Анксиолитическое действие аналогов кисспептина у *Danio rerio*

В.А. Гольц<sup>1</sup>, А.А. Лебедев<sup>1</sup>, А.А. Блаженко<sup>1</sup>, В.А. Лебедев<sup>1</sup>, С.В. Казаков<sup>1</sup>, А.А. Байрамов<sup>2</sup>, П.П. Хохлов<sup>1</sup>, Е.Р. Бычков<sup>1</sup>, С.С. Пюрвеев<sup>1</sup>, П.Д. Шабанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

**Актуальность.** Нейропептид кисспептин в настоящее время наиболее широко известен как регулятор полового поведения млекопитающих.

**Цель** — изучение фармакологических эффектов аналогов кисспептина Kiss1 млекопитающих «Cloud Clone» (США): KS4, KS5, KS6, KS7, KS8, KS9 и Kiss10 на поведение рыб *Danio rerio*. Пептиды отличались строением конечных четырех аминокислот.

**Материалы и методы.** Кисспептины растворяли в воде для аквариумов и применяли в двух дозах: 0,01 и 0,1 мг/л. В качестве препарата сравнения использовали субстанцию феназепам. Феназепам растворяли в воде и применяли в трех дозах: 0,1, 0,5 и 1 мг/л. В работе проведено сравнение кисспептинов с анксиолитиками на примере феназепам в тесте новизны. Для этого рыбу помещали сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или H<sub>2</sub>O), а затем в просмотровый аквариум на 6 мин, где автоматически регистрировали траекторию движения, длину пути, число перемещений в верхнюю часть аквариума, время пребывания в нижней части аквариума, число и время паттерна «фризинг». Время пребывания рыбы в нижней части аквариума после введения феназепам снижалось, особенно при использовании в дозе 0,5 и 1 мг/л.

**Результаты.** Аналоги кисспептина снижали показатели, характеризующие тревожное состояние рыб. На фоне действия аналогов кисспептина Kiss1 средняя длина пройденного пути рыбы, в отличие от эффектов феназепам, значительно различалась. В сравнении с контролем у KS4 в дозе 0,1 мг/л отмечали снижение числа фризинга, времени фризинга и длины траектории в 1,4 раза и возрастание числа переходов в верхнюю часть аквариума в 1,5 раза. При дозе 0,01 мг/л уменьшались число и время фризинга, длина траектории в 1,5–3 раза. У KS5 в дозе 0,1 мг/л уменьшались число и время фризинга, длина траектории и число переходов в верхнюю часть аквариума в 1,2–1,6 раза. В дозе 0,01 мг/л уменьшались число и время фризинга и длина траектории в 2,8–3 раза. У KS6: доза 0,1 мг/л — уменьшение числа и времени фризинга и длины траектории в 2–2,5 раза. Увеличивалось число переходов в верхнюю часть аквариума в 2,5 раза; доза 0,01 мг/л — снижение числа и времени фризинга и длины траектории в 1,7–2,5 раза. У KS7: доза 0,1 мг/л — уменьшение числа и времени фризинга и длины траектории в 1,3–2 раза. Увеличивалось число перемещений в верхнюю часть аквариума в 1,6 раза; доза 0,01 мг/л — снижение числа и времени фризинга и длины траектории в 1,6 раза. У KS8: доза 0,1 мг/л — снижение числа и времени фризинга и длины траектории в 1,6 раза; доза 0,01 мг/л — снижение числа и времени фризинга и длины траектории в 1,8–2,3 раза. У KS9: доза 0,1 мг/л — снижение числа и времени фризинга и длины траектории в 1,2–2 раза; доза 0,01 мг/л — снижение числа и времени фризинга и длины траектории в 1,6 раза. У Kiss10 в дозе 0,1 мг/л наблюдали снижение числа и времени фризинга, длины траектории в 1,4–1,6 раза. Увеличивалось число переходов в верхнюю часть аквариума в 2,7 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число и время фризинга, длина траектории в 1,3–1,7 раза. Наблюдалось увеличение числа траектории в 1,3 раза. Аналоги кисспептина не уступали эффектам феназепам. Среди аналогов кисспептина млекопитающих наиболее значимые показатели наблюдали у KS6 в дозе 0,1 мг/л.

**Заключение.** Сделан вывод, что аналоги кисспептина Kiss1 млекопитающих и Kiss10 снижают тревожно-фобические реакции на новизну у *Danio rerio*. В то же время эффекты исследуемых аналогов кисспептина ниже, чем у феназепам. Кисспептин участвует не только в модуляции серотонинзависимого поведения у *Danio rerio*, но и ГАМК-ергической системы, как транквилизаторы бензодиазепинового ряда. Результаты исследований подтверждают гипотезу, что кисспептин может участвовать в регуляции тревожно-фобических состояний, по-видимому, для поддержания эмоциональных аспектов репродуктивного поведения, таких как половая мотивация и возбуждение.

**Ключевые слова:** *Danio rerio*; кисспептины; тревожность; страх; транквилизаторы; феназепам.

### Как цитировать:

Гольц В.А., Лебедев А.А., Блаженко А.А., Лебедев В.А., Казаков С.В., Байрамов А.А., Хохлов П.П., Бычков Е.Р., Пюрвеев С.С., Шабанов П.Д. Анксиолитическое действие аналогов кисспептина у *Danio rerio* // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2023. Т. 21. № 2. С. 159–169. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF321976>

Рукопись получена: 06.04.2023

Рукопись одобрена: 14.06.2023

Опубликована: 30.06.2023



DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF321976>

Research Article

# Study of the effects of kisspeptin analogs on the behavior of *Danio rerio*

Vladanka A. Golts<sup>1</sup>, Andrei A. Lebedev<sup>1</sup>, Aleksandra A. Blazhenko<sup>1</sup>, Victor A. Lebedev<sup>1</sup>, Sergei V. Kazakov<sup>1</sup>, Alikber A. Bayramov<sup>2</sup>, Platon P. Khokhlov<sup>1</sup>, Eugenio R. Bychkov<sup>1</sup>, Sarnig S. Purveev<sup>1</sup>, Petr D. Shabanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

**BACKGROUND:** This study aims to analyze the behavioral effects of mammalian Kiss1 kisspeptin analogs, Clone (USA): KS4, KS5, KS6, KS7, KS8, KS9, and Kiss10, on *Danio rerio* (zebrafish). The peptides have structural variations in the final four amino acids.

**MATERIALS AND METHODS:** Kisspeptins were dissolved in aquarium water and administered in two doses: 1) 0.01 mg per 1000 ml of water, and 2) 0.1 mg per 1000 ml of water. Phenazepam, an anxiolytic, was also dissolved in water and used in three doses: 1) 0.1 mg per 1000 ml, 2) 0.5 mg per 1000 ml, and 3) 1 mg per 1000 ml. The study compared kisspeptines with anxiolytics using phenazepam as an example in the novelty test. The fish's response to novelty in the viewing tank was assessed, including diving to the bottom, increased freezing, and decreased movement in the upper half of the tank. Fish residence time in the lower part of the tank after phenazepam administration decreased, especially at a dose of 0.5 and 1 mg/l.

**RESULTS:** Kisspeptin analogues decreased the indices characterizing the anxious state of the fish. Against the background of Kiss1 kisspeptin analogues, the average fish path length differed significantly in contrast to the effects of phenazepam. KS4 at a dose of 0.1 mg/l showed a 1.4-fold decrease in the number of freezing, in the freezing time, in the trajectory length and 1.5-fold increase in the number of transitions to the upper part of the tank. The dose of 0.01 mg/l decreased the number of freezing, freezing time, and trajectory length by 1.5–3 times. KS5 at a dose of 0.1 mg/l decreased the number of freezing, the freezing time, the trajectory length and the number of transitions to the upper part of the tank by 1.2–1.6 times. The dose of 0.01 mg/l decreased the number of freezing, freezing time, trajectory length by 2.8–3 times. KS6 at a dose of 0.1 mg/l decreased the number of freezing, the freezing time, and the trajectory length by 2–2.5 times. The number of transitions to the upper part of the aquarium increased 2.5 times. The dose of 0.01 mg/ml decreased the number of freezing, freezing time, and trajectory length by 1.7–2.2 times. KS7 at a dose of 0.1 mg/l decreased the number of freezing, freezing time, and trajectory length by 1.3–2 times. The number of movements to the top of the aquarium increased 1.6-fold. The dose of 0.01 mg/l decreased the number of freezing, freezing time, trajectory length by 1.6 times. KS8 at a dose of 0.1 mg/l decreased the number of freezing, the freezing time, and the trajectory length by 1.6 times. The dose of 0.01 mg/l decreased the number of freezing, the freezing time, and the trajectory length by 1.8–2.3 times. KS9 at a dose of 0.1 mg/l decreased the number of freezing, the freezing time, and the trajectory length by 1.2–2 times. The dose of 0.01 mg/l reduced the number of freezing, the freezing time, and the trajectory length by 1.6 times. In Kiss10 at a dose of 0.1 mg/l, there was a 1.4–1.6-fold decrease in the number of freezing, in freezing time, and in trajectory length. There was a 2.7-fold increase in the transitions to the upper part of the aquarium. The dose of 0.01 mg/l decreased the number of freezing, freezing time, and trajectory length by 1.3–1.7 times. We observed a 1.3-fold increase in the number of trajectories. Summarizing the obtained indicators, we came to the conclusion that kisspeptin analogues were not inferior in their effect to the effects obtained after taking the tranquilizer phenazepam. Among mammalian kisspeptin analogues, KS6 at a dose of 0.1 mg/L showed the best performance.

**CONCLUSIONS:** The study concludes that mammalian Kiss1 kisspeptin analogs and Kiss10 reduce anxiety-phobic reactions to novelty in *Danio rerio*. The effects of the studied kisspeptin analogs are lower than those of phenazepam. Kisspeptin is involved not only in the modulation of serotonin-dependent behavior in *Danio rerio* but also in the GABA-ergic system, resembling benzodiazepine-type tranquilizers. The results support the hypothesis that kisspeptin may be involved in the regulation of anxiety-phobic states, likely playing a role in maintaining the emotional aspects of reproductive behavior, such as sexual motivation and arousal.

**Keywords:** *Danio rerio*; kisspeptins; anxiety; fear; tranquilizers; phenazepam.

## To cite this article:

Golts VA, Lebedev AA, Blazhenko AA, Lebedev VA, Kazakov SV, Bayramov AA, Khokhlov PP, Bychkov ER, Purveev SS, Shabanov PD. Study of the effects of kisspeptin analogs on the behavior of *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2023;21(2):159–169. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF321976>

Received: 06.04.2023

Accepted: 14.06.2023

Published: 30.06.2023

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Кисспептин (ранее известный как метастин) — это белок, который кодируется геном *KISS1*, расположенным в локусе 1q32. Данный нейропептид представляет собой последовательность из 145 аминокислот, от которого под воздействием протеолитических ферментов отщепляется кисспептин 54 (Кп-54). Протеолитическое расщепление этого пептида из 54 аминокислот приводит к образованию более коротких биологически активных продуктов, обозначаемых кисспептином-14 (Кп-14), кисспептином-13 (Кп-13) и кисспептином-10 (Кп-10) [1]. Кисспептины млекопитающих относятся к классу амидных пептидов RF семейства, поскольку они имеют характерный консервативный карбоксильный конец Arg-Phe-NH<sub>2</sub> [2]. Кисспептин ассоциирован с белком G, что обеспечивает активацию всеми биологическими продуктами гена *Kiss1*. Рецептор Gpr54 в 2001 г. был обозначен рецептором кисспептина-1 (*KISS1R*) [3]. *KISS1R* состоит из 398 аминокислот и относится к семейству родопсиновых рецепторов, сопряженных с G-протеинами 7 трансмембранными доменами. Установлено, что взаимодействие кисспептина с рецептором приводит к внутриклеточной активации фосфолипазы C и вторичных мессенджеров, приводящих к высвобождению кальция и протеинкиназы C, реализующих функции пептида [4, 5]. Впервые был обнаружен в мозге крыс как орфанный рецептор, имевший 40 % сходства с галаниновыми рецепторами [6].

Кисспептин экспрессируется в нескольких областях центральной нервной системы крыс, включая ядра гипоталамуса (например, дугообразное ядро, передне-вентральное паравентрикулярное ядро — AVPV, ядра таламуса, миндалину, гиппокамп, латеральную перегородку, ядро ложа терминальной полоски, полосатое тело, прилежащее ядро — NAc, периакведуктальное серое и *locus coeruleus*) [7, 8]. Аналогично *Kiss1r* был локализован у крыс в гипоталамусе (например, паравентрикулярном, дугообразном и супраоптическом ядре), таламусе, гиппокампе, миндалине, перегородке, полосатом теле, ядрах рафов и коре головного мозга [6, 9]. Помимо видов млекопитающих система кисспептина также обнаружена у позвоночных, не относящихся к млекопитающим. Действительно, в 2004 г. ортолог рецептора кисспептина (*Kiss2r*) был впервые выделен у вида костистых (нильская тилапия), что дало первоначальные доказательства наличия кисспептиновой системы у рыб [10]. В отличие от грызунов и людей у многих видов рыб было идентифицировано более одной формы кисспептина и парологов рецепторов кисспептина. Например, рыбки данио обладают двумя генами кисспептина (*Kiss1* и *Kiss2*) и двумя соответствующими генами родственных рецепторов (*Kiss1r* и *Kiss2r*) [11]. В то время как и *Kiss1*, и *Kiss1r* совместно экспрессируются в вентральной хабенуле, нейроны, экспрессирующие *Kiss2*, находятся в преоптической области гипоталамуса и участвуют в секреции гонадотропина [12, 13]. Однако стоит отметить, что несколько исследований

мутаций генов у рыбок данио и медаки показывают, что репродуктивная роль кисспептина может быть необязательной [14–17].

В исследовании, в котором рыбкам данио внутривенно вводили кисспептин, отмечалось увеличение числа переходов в верхнюю часть аквариума в тесте новизны, что указывало на наличие исследовательского поведения и ослабление тревоги [18]. Данные состояния связывают со значительной экспрессией mRNA в вентральной хабенуле, являющейся эволюционно консервативной в мозге позвоночных и принимающей участие в эмоциональных ответах, которые связаны по большей части с реакциями страха и тревоги [11]. Отмечалось, что у самцов мышей введение кисспептина способствовало социальному поведению, а стимуляция нейронов кисспептина в медиальное задне-дорзальное ядро миндалины также увеличивало время нахождения в открытых рукавах теста «приподнятый крестообразный лабиринт» [19]. Это дает основание полагать, что кисспептин обладает анксиолитическим действием. Однако эти данные весьма противоречивы. В недавнем исследовании изучалось, влияет ли интрацеребровентрикулярное введение фрагмента Кп-8 на тревожные реакции у грызунов. В ходе исследования отмечали снижение времени в открытых рукавах лабиринта после интрацеребровентрикулярного введения у самцов крыс. Наблюдала также увеличение уровня кортикостерона, что дает основание полагать об анксиогенных эффектах кисспептина [20]. Напротив, в ходе дальнейших исследований не было обнаружено связи модулирующего действия и тревоги у грызунов. Внутривентрикулярное введение кисспептина не влияло на уровень адренкортикотропного гормона и кортикостерона после 30-минутного стресса, осуществляемого посредством иммобилизации в пластиковой пробирке [21]. Аналогичным образом, было замечено, что интрацеребровентрикулярное введение кисспептина самцам крыс не влияло на поведение, связанное со стрессом [22]. Сообщается, что интрацеребровентрикулярное введение Кп-13 оказывает анксиогенный эффект на самцов крыс. Кп-13 не только индуцировал значительное повышение уровня кортикостерона в плазме, но и уменьшал количество заходов и время нахождения в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта [23]. С целью выяснить, с какими рецепторами происходит взаимодействие кисспептина, было проведено исследование на пассивное избегание обучения у мышей, в ходе которого выявилось, что Кп-13 способствует обучению за счет взаимодействия с адренергическими, серотонинергическими, холинергическими, ГАМКергическими рецепторами [24]. С помощью флуоресцентной иммунохимии в миндалине грызунов были обнаружены нейроны кисспептина, находящиеся в тесном расположении с вазопрессинергическими и дофаминергическими нейронами. Нейроны миндалины у самцов мышей представляют собой смешанную популяцию, в которой 71 % приходится на ГАМКергические рецепторы (Vgat) и 29 % на глутаматергические (Vglut2) [25–27].

Известно, что  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК) — широко распространенный нейромедиатор в нервной системе позвоночных животных. Его основной предшественник, L-глутаминовая кислота, подвергается декарбоксилированию в  $\alpha$ -С-сайте, катализируемой у млекопитающих глутаматдекарбоксилазой (GAD) 67 или 65. Субклеточная локализация данных изоформ различна, при этом обнаружено, что GAD67 почти повсеместно присутствует в нейронах, продуцирующих ГАМК, а GAD65 специфически расположен на концах аксонов, где он связывается с митохондриями и синаптическими пузырьками. У высших позвоночных система нейронов, продуцирующих ГАМК, локализована в дорсомедиальном, паравентрикулярном, перифорикальном ядрах гипоталамуса, а также амигдале, принимающей участие в корригировании постстрессорных состояний. ГАМКергические нейроны идентифицированы у рыб данио. Этот вид рыб имеет три изоформы GAD, из которых две, *gad1a* и *gad1b*, напоминают GAD67 млекопитающих, а третья, *gad2*, гомологична GAD65. Эти ферменты были локализованы в мозжечке взрослой рыбы и в переднем мозге во время эмбрионального развития. Экспериментально доказано, что ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы также расположены в сетчатке рыб данио, в то время как ГАМК<sub>B</sub> — только в мозжечке и обонятельных луковицах. Известно также, что кисспептин индуцирует антидепрессантоподобное действие у грызунов через адренергическую и серотонинергическую системы [28]. В соответствии с этим нейроны кисспептина в хабенуле модулируют серотонинергическую систему, подавляя реакцию страха у рыб данио [18, 29]. Можно выдвинуть предположение о вовлечении кисспептина в функции данных нейромедиаторных систем. Поскольку ген *kiss1* у костистых рыб является консервативным ортологом гена *Kiss1* млекопитающих и участвует в регуляции тревоги и страха, нами было сделано предположение о возможном анксиолитическом действии аналогов кисспептина Kiss1 млекопитающих у *Danio rerio*. Ранее мы подтвердили гипотезу о том, что аналоги кисспептина действительно снижают тревожно-фобические реакции у этих рыб в ответ на стресс новизны. Однако в сравнении с антидепрессантами серотонинового типа действия они проявляли более слабый эффект [30]. В настоящем исследовании для изучения тревоги и страха мы использовали тест новизны, описанный в наших предыдущих исследованиях [31, 32].

**Цель** — изучение действия аналогов кисспептина млекопитающих и Kiss10 на тревожно-фобические состояния в тесте новизны у *Danio rerio*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Выбор животных

В работе использованы 105 половозрелых рыб *Danio rerio* (zebrafish) в возрасте 6–8 мес. (молодые половозрелые животные, жизненный цикл до 5 лет) фирмы «Аква Питер», выращенные в ФГБНУ «ИЭМ», — *Danio rerio*,

дикий тип (wild type). Для тестирования использовали интактных животных после 2-недельного периода адаптации к помещению и аквариумам водоизмещением 40 л по 20–30 животных в каждом. Температуру воды 25–27 °С поддерживали постоянно. Животных содержали в стандартных условиях светового режима (8:00–20:00) при температуре помещения 22 ± 2 °С, кормили дважды в день стандартным кормом Tetramin tropical flakes.

### Тест стресса новизны

Для экспериментов оценки новизны применяли стандартный просмотрный аквариум, который используется для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio* [33, 34]. Он имел водоизмещение 1,5 л, трапецевидную форму, высоту 15 см и ширину 7 см. Длина аквариума в основании составляла 22 см, в верхней части — 28 см. Такая конструкция позволяет минимизировать латеральные движения рыбки и свободно наблюдать за вертикальными и горизонтальными движениями. Поскольку данный поведенческий тест основывается главным образом на инстинкте поиска защиты от незнакомой обстановки погружением на дно [35, 36], аквариум был разделен чертой на две равные части — верхнюю и нижнюю. Рыбку помещали сначала в мерный стакан водоизмещением 200 мл с растворенным фармакологическим веществом (или водой) на 5 мин, затем в предстартовый аквариум с водой (10 × 10 × 10 см) на 5 мин и далее в просмотрный аквариум на 6 мин, где регистрировали двигательную активность за опыт (длина трека рыбки), число переходов в верхнюю и нижнюю половины аквариума и время нахождения в них. Автоматически регистрировали число и время паттернов «фризинг» (обездвиживание, или «примерзание») за опыт, которые обычно наблюдаются при стрессе новизны и отражают уровень тревожности животного [37]. Поведение регистрировали автоматически с помощью системы NoldusEthoVision XT7, которая позволяет просмотреть видеотреки рыбки. Система дает возможность как снимать показания в цифровом выражении, так и визуально контролировать видеотрек. Весь период наблюдения непрерывно регистрировался, при помощи программы шла запись траектории движения.

### Фармакологические вещества

Для фармакологического анализа использовали аналоги кисспептина Kiss1 млекопитающих Cloud Clone (США): KS4, KS5, KS6, KS7, KS8, KS9, а также Kiss 10 (Tyr-Asn-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>). Пептиды отличались строением конечных четырех аминокислот. Кисспептины растворяли в воде для аквариумов и применяли в двух дозах: 0,01 мг/л и 0,1 мг/л. В качестве препарата сравнения использовали субстанцию феназепам ОАО «Новосибхимфарм» (Россия). Феназепам растворяли в воде для аквариумов и применяли в трех дозах: 0,1; 0,5; 1 мг/л.

**Статистические методы анализа**

Оценку статистической достоверности различий проводили при помощи пакета программ GraphPad Prism 8.4. с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Для сравнения контрольной и экспериментальных групп использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Полученные результаты по анализу биологического материала определяли по *t*-критерию Стьюдента. Из непараметрических критериев использовали критерий Ньюмена – Кейлса для сравнения групп. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Для представления полученных данных использовали такие показатели описательной статистики, как среднее арифметическое значение и ошибка среднего.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

В процессе проведения экспериментов были установлены типичные поведенческие реакции на новизну (то есть на помещение животного в просмотровый аквариум). Как правило, рыба находилась в это время в нижней части просмотрового аквариума и совершала небольшие перемещения вдоль него. Средняя длина пути рыбы составляла  $1205 \pm 91,8$  см (табл. 1). При этом часто наблюдали фризинг (примерзание, время полной неподвижности). Число и время паттерна «фризинг» автоматически регистрировались и составляли за опыт соответственно  $68,2 \pm 5,7$  и  $36,5 \pm 4,5$  с. Среднее время пребывания рыбы в нижней части аквариума составляло  $351,0 \pm 36,4$  с. Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума за опыт —  $1,2 \pm 0,8$ . На фоне введения феназепама были выявлены типичные для анксиолитика поведенческие реакции на новизну. Как правило, рыбы не только находились в это время в нижней части просмотрового аквариума, но и часто заплывали в верхнюю его часть. На фоне феназепама их средняя длина пути существенно не изменялась в диапазоне использованных доз по сравнению с контрольной группой животных. При этом, так же как и в контроле, наблюдался фризинг. Число и время паттерна «фризинг» достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных ( $p < 0,05$ ) и проявляли дозозависимый эффект. Среднее время пребывания рыбы в нижней части аквариума также достоверно снижалось по сравнению с контрольной группой животных ( $p < 0,05$ ) и составляло при введении дозы

0,1; 0,5 и 1 мг/л соответственно  $297,0 \pm 37,6$ ;  $207,6 \pm 52,2$  и  $142,8 \pm 44,1$  с, проявляя дозозависимый эффект. Наиболее статистически значимыми являлись дозировки 1 и 0,5 мг/л соответственно (табл. 1).

На фоне действия аналогов киспетина Kiss1 мы получили следующие данные. В сравнении с контролем:

- у KS4 в дозе 0,1 мг/л отмечали снижение числа фризинга в 1,4 раза, времени фризинга в 1,4 раза, длины траектории в 1,4 раза. Число переходов в верхнюю часть аквариума увеличивалось в 1,5 раза. В дозе 0,01 мг/л уменьшалось число фризинга в 1,5 раза, время фризинга в 1,5 раза, длина траектории в 3 раза;
- у KS5 в дозе 0,1 мг/л уменьшались число фризинга в 1,6 раза, время фризинга в 1,6 раза, длина траектории в 1,17 раза. Увеличивалось число переходов в верхнюю часть аквариума в 1,5 раза. В дозе 0,01 мг/л уменьшались число фризинга в 3 раза, время фризинга в 2,8 раза, длина траектории в 2,8 раза;
- у KS6 в дозе 0,1 мг/л уменьшались число фризинга в 2,7 раза, время фризинга в 2 раза, длина траектории в 2,5 раза. Увеличивалось число переходов в верхнюю часть аквариума в 2,5 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризинга в 2,6 раза, время фризинга в 2,6 раза, длина траектории в 1,7 раза;
- у KS7 в дозе 0,1 мг/л уменьшались число фризинга в 1,7 раза, время фризинга в 1,4 раза, длина траектории в 1,3 раза. Увеличивалось число перемещений в верхнюю часть аквариума в 1,6 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризинга в 1,7 раза, время фризинга в 1,4 раза, длина траектории в 1,6 раза;
- у KS8 в дозе 0,1 мг/л снижались число фризинга в 1,6 раза, время фризинга в 1,7 раза, длина траектории в 1,6 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризинга в 2,3 раза, время фризинга в 2,2 раза, длина траектории в 1,8 раза;
- у KS9 в дозе 0,1 мг/л снижались число фризинга в 2 раза, время фризинга в 2 раза, длина траектории в 1,2 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризинга в 1,5 раза, время фризинга в 1,5 раза, длина траектории в 1,6 раза;
- у Kiss10 в дозе 0,1 мг/л наблюдали снижение числа фризинга в 1,6 раза, время фризинга в 1,5 раза, длины траектории в 1,4 раза. Наблюдалось увеличение переходов в верхнюю часть аквариума в 2,7 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризинга в 1,7 раза, время фризинга в 1,6 раза, длина траектории в 1,3 раза. Наблюдалось увеличение числа траектории в 1,3 раза.

**Таблица 1.** Действие феназепама в разных концентрациях на поведенческие ответы *Danio rerio* в тесте стресса новизны,  $M \pm m$

Группа, концентрация вещества, мг/л	Число фризинга	Время фризинга, с	Длина траектории, см	Время нахождения в нижней части аквариума, с	Число переходов в верхнюю часть аквариума
Контроль	$68,2 \pm 5,7$	$36,5 \pm 4,5$	$1205 \pm 91,8$	$351 \pm 36,4$	$1,2 \pm 0,8$
Феназепам 0,1	$52,4 \pm 8,1$	$34,6 \pm 3,9$	$1315 \pm 88,1$	$297 \pm 37,6$	$3,1 \pm 1,1$
Феназепам 0,5	$36,3 \pm 7,5^*$	$23,7 \pm 6,2^*$	$1256 \pm 106,2$	$207,6 \pm 52,2^*$	$18,6 \pm 4,3^*$
Феназепам 1,0	$29,7 \pm 5,2^*$	$17,3 \pm 4,6^*$	$1422 \pm 91,1$	$142,8 \pm 44,1^*$	$57 \pm 9,2^{**}$

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  относительно группы рыб с чистой водой (контроль) в просмотровом аквариуме.

**Таблица 2.** Действие аналогов кисспептина и кисспептина-10 на поведенческие ответы *Danio rerio* в тесте стресса новизны,  $M \pm m$ 

Группа, концентрация вещества, мг/л	Число фризингов	Время фризинга, с	Длина траектории, см	Время в нижней части аквариума, с	Число переходов в верхнюю часть аквариума
Контроль	81,38 ± 4,95	41,35 ± 2,31	1643,0 ± 289,8	213,9 ± 32,46	19,67 ± 3,756
KS4 0,1	55,17 ± 9,16*	28,67 ± 4,33*	1158,0 ± 217,8	314,8 ± 96,68	29,0 ± 3,856
KS4 0,01	53,0 ± 4,64**	27,58 ± 2,28**	482,8 ± 68,15**	201,7 ± 57,7	10,67 ± 2,765
KS5 0,1	48,33 ± 7,92**	24,33 ± 3,89**	1394,0 ± 691,5	209,2 ± 50,72	28,67 ± 6,859
KS5 0,01	27,83 ± 3,28#	14,33 ± 1,95#	572,0 ± 117,5**	133,9 ± 42,71	11,67 ± 3,273
KS6 0,1	29,67 ± 4,88#	18,92 ± 5,52**	663,6 ± 188,6*	183,1 ± 84,21	50,83 ± 6,695**
KS6 0,01	31,17 ± 4,16#	15,67 ± 2,14#	922,5 ± 249,4	186,5 ± 49,87	21,5 ± 3,695
KS7 0,1	47,33 ± 8,32**	29,08 ± 7,9	1205,0 ± 260,5	250,9 ± 79,55	31,83 ± 8,134
KS7 0,01	47,5 ± 10,32*	29,33 ± 7,98	995,0 ± 258,5	149,2 ± 51,33	12,5 ± 3,294
KS8 0,1	48,17 ± 9,85*	24,0 ± 5,03*	997,9 ± 289,1	232,7 ± 45,37	21,83 ± 5,388
KS8 0,01	35,5 ± 10,09**	18,67 ± 4,76**	905,4 ± 236,9	188,0 ± 60,76	13,0 ± 2,191
KS9 0,1	41,0 ± 9,25**	20,58 ± 4,66**	1330,0 ± 401,6	116,2 ± 55,03	21,17 ± 6,565
KS9 0,01	53,83 ± 12,77	26,23 ± 6,73	1027,0 ± 237,3	147,8 ± 52,47	18,33 ± 4,271
Kiss10 0,1	50,33 ± 10,9*	28,42 ± 7,96	1163,0 ± 155,6	224,4 ± 38,58	54,83 ± 9,268**
Kiss10 0,01	48,67 ± 14,09	25,33 ± 7,65	1273,0 ± 276,5	180,7 ± 41,22	25,5 ± 3,879

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,005$ ; # $p < 0,0001$  относительно контрольной группы.

Резюмируя полученные показатели, мы пришли к выводу, что аналоги кисспептина по своему действию не уступают полученным эффектам после приема транквилизатора феназепама. Однако ожидаемые нами результаты продемонстрировал KS6 в дозе 0,1 мг/л (табл. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее исследования на новизну помещения в аквариум у *Danio rerio* были описаны на примере антидепрессантов серотонинового типа действия. При этом мы определили, что в сравнении с контролем и аналогами кисспептина анксиолитические эффекты антидепрессантов имели наиболее высокие показатели. На сегодняшний день в клинической практике назначают препараты группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС). Согласно проведенному метаанализу в сравнении с плацебо наибольшее действие препараты группы СИОЗС оказали на пациентов с социальной тревожностью. На втором месте — пациенты с генерализованным тревожным расстройством, и затем — пациенты с паническим расстройством [38]. Однако длительный прием антидепрессантов приводит к селективному синдрому апатии. В ходе проведенного исследования была выявлена связь развития депрессии на фоне длительного употребления антидепрессантов в сравнении с плацебо [39]. В данном случае синдром СИОЗС связан с формированием протагонизма серотонина и дофамина в структурах ЦНС.

Повышение уровня серотонина на фоне приема СИОЗС приводит к снижению активности дофамина в мезокортикальном и мезолимбическом путях, отвечающих за мотивацию и эмоциональные состояния соответственно. В связи с тем что эти системы ответственны за мотивационную активность, снижение их активности приводит к развитию данного синдрома [40]. Подбор препарата для лечения расстройств всегда сопровождался осложнениями, связанными с побочными эффектами. Помимо антидепрессантов группы СИОЗС мы рассмотрели действие препаратов группы бензодиазепамина на примере феназепама. Однако наиболее частыми побочными эффектами становятся сонливость и заторможенность [41]. Несмотря на недостатки описанных групп препаратов, они продолжают широко использоваться на фармацевтическом рынке.

Наши исследования показали, что реакция на новизну помещения в новый аквариум у *Danio rerio* на фоне введения транквилизатора вызывает типичную картину поведенческих актов. При этом время нахождения рыбки в верхней части аквариума достоверно увеличивалось. Длина траектории движения рыбы после введения феназепама увеличивалась. Число и время паттерна «фризинг» достоверно уменьшались по сравнению с контролем, и наблюдался дозозависимый эффект. Время в нижней части аквариума на фоне феназепама существенно снижалось. Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных. Необходимо отметить,

что анксиолитические эффекты аналогов кисспептина млекопитающих, определяемые по снижению времени в нижней половине аквариума и увеличению числа переходов в верхнюю часть аквариума, оказались не такими высокими по сравнению с поведенческими эффектами, которые наблюдались после введения феназепама. Наибольшая достоверность была у KS6. Наиболее эффективная доза для действия изученных аналогов кисспептина соответствовала 0,1 мг/л.

Страх — одна из примитивных эмоций, эволюционно сформированной от низших до высших организмов как ответ на угрожающие сигналы среды [42]. По всей видимости, общими будут и нейронные механизмы у разных классов животных. Уже известно, что ген *kiss1* у костистых рыб является консервативным ортологом гена *KISS1 / Kiss1* млекопитающих и участвует в регуляции тревоги и страха, опосредуя 5 НТ-систему [18, 43], на основании чего *Danio rerio* были выбраны как первичный объект исследования. Однако тревожно-фобические реакции опосредуются не только серотонинэргической системой. В данном исследовании мы предположили, что помимо 5 НТ-системы в реакции страха участвует система ГАМК. Поскольку проводятся исследования касательно эффектов кисспептинов и уже известно, что у млекопитающих данный пептид взаимодействует с серотонинэргическими, холинергическими, ГАМКергическими рецепторами [24], то мы предположили об аналогичных механизмах поведения в связи со стрессом у рыб данио. Наличие Kiss-R в уздечке рыб и млекопитающих [44] предполагает, что роль передачи сигналов кисспептина может быть эволюционно сохранена у позвоночных.

## ВЫВОДЫ

1. Аналоги кисспептина Kiss1 млекопитающих снижают тревожно-фобические реакции на новизну у *Danio rerio*. В то же время эффекты исследуемых аналогов кисспептина незначительно ниже, чем у феназепама.

2. Судя по всему, кисспептин участвует не только в модуляции серотонинзависимого поведения у *Danio rerio*, но и ГАМКергической системы, подобно транквилизаторам бензодиазепинового ряда.

3. Результаты исследований подтверждают гипотезу о том, что кисспептин может участвовать в регуляции

тревожно-фобических состояний, по-видимому, для поддержания эмоциональных аспектов репродуктивного поведения, таких как половая мотивация и возбуждение.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: В.А. Гольц, А.А. Блаженко, В.А. Лебедев, С.В. Казаков, А.А. Байрамов, П.П. Хохлов, Е.Р. Бычков, С.С. Пурвеев — написание статьи, анализ данных; А.А. Лебедев, П.Д. Шабанов — разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России FGWG-2022-0004 на 2022–2025 гг. «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддиктивных и нейроэндокринных нарушениях и создание новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС».

## ADDITIONAL INFORMATION

**Authors' contribution.** Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. Personal contribution of each author: V.A. Golts, A.A. Blazhenko, V.A. Lebedev, S.V. Kazakov, A.A. Bayramov, P.P. Khokhlov, E.R. Bychkov, S.S. Purveev — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; A.A. Lebedev, P.D. Shabanov — general concept discussion.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Funding source.** The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science of Russia FGWG-2022-0004 for 2022–2025 “Search of molecular targets for pharmacological action in addictive and neuroendocrine disorders and the creation of new pharmacologically active substances acting on CNS receptors”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kotani M., Detheux M., Vandenbogaerde A., et al. The metastasis suppressor gene *KiSS-1* encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G Protein-coupled receptor *GPR54* // *J Biol Chem*. 2001. Vol. 276, No. 34. P. 631–636. DOI: 10.1074/jbc.M104847200
2. Quillet R., Ayachi S., Bihel F., et al. RF-amide neuropeptides and their receptors in Mammals: Pharmacological properties, drug development and main physiological functions // *Pharmacol Ther*. 2016. Vol. 160. P. 84–132. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.02.005
3. Ohtaki T., Shintani Y., Honda S.I., et al. Metastasis suppressor gene *KiSS-1* encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor // *Nature*. 2001. Vol. 411, No. 6837. P. 613–617. DOI: 10.1038/35079135
4. Pampillo M., Camuso N., Taylor J.E., et al. Regulation of *GPR54* signaling by *GRK2* and *arrestin* // *Mol Endocrinol*. 2009. Vol. 23, No. 12. P. 2060–2074. DOI: 10.1210/me.2009-0013
5. Szereszewski J.M., Pampillo M., Ahow M.R., et al. *GPR54* regulates *ERK1/2* activity and hypothalamic gene expression

- in a Galpha(q/11) and beta-arrestin-dependent manner // PLoS One. 2010. Vol. 5, No. 9. P. 129–164. DOI: 10.1371/journal.pone.0012964
6. Lee D.K., Nguyen T., O'Neill G.P., et al. Discovery of a receptor related to the galanin receptors // FEBS Lett. 1999. Vol. 446, No. 1. P. 103–107. DOI: 10.1016/S0014-5793(99)00009-5
  7. Brailoiu G.C., Dun S.L., Ohsawa M., et al. KiSS-1 expression and metastin-like immunoreactivity in the rat brain // J Comp Neurol. 2005. Vol. 481, No. 3. P. 314–329. DOI: 10.1002/cne.20350
  8. Overgaard A., Tena-Sempere M., Franceschini I., et al. Comparative analysis of kisspeptin-immunoreactivity reveals genuine differences in the hypothalamic Kiss1 systems between rats and mice // Peptides. 2013. Vol. 45. P. 85–90. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.04.013
  9. Higo S., Honda S., Iijima N., Ozawa H. Mapping of kisspeptin receptor mRNA in the whole rat brain and its co-localisation with oxytocin in the paraventricular nucleus // J Neuroendocrinol. 2016. Vol. 28, No. 4. P. 1–8. DOI: 10.1111/jne.12356
  10. Parhar I.S., Ogawa S., Sakuma Y. Laser-captured single digoxigenin-labeled neurons of gonadotropin-releasing hormone types reveal a novel G protein-coupled receptor (Gpr54) during maturation in cichlid fish // Endocrinology. 2004. Vol. 145, No. 8. P. 3613–3618. DOI: 10.1210/en.2004-0395
  11. Ogawa S., Parhar I.S. Functions of habenula in reproduction and socio reproductive behaviours // Front Neuroendocrinol. 2021. Vol. 64. ID 100964. DOI: 10.1016/j.yfrme.2021.100964
  12. Kitahashi T., Ogawa S., Parhar I.S. Cloning and expression of Kiss2 in the zebrafish and medaka // Endocrinology. 2009. Vol. 150, No. 2. P. 821–831. DOI: 10.1210/en.2008-0940
  13. Ogawa S., Parhar I.S. Biological significance of kisspeptin-Kiss 1 receptor signaling in the habenula of teleost species // Front Endocrinol. 2018. Vol. 9. ID 222. DOI: 10.3389/fendo.2018.00222
  14. Tang H., Liu Y., Luo D., et al. The Kiss/Kissr systems are dispensable for zebrafish reproduction: Evidence from gene knockout studies // Endocrinology. 2015. Vol. 156, No. 2. P. 589–599. DOI: 10.1210/en.2014-1204
  15. Liu Y., Tang H., Xie R., et al. Genetic evidence for multifactorial control of the reproductive axis in zebrafish // Endocrinology. 2017. Vol. 158, No. 3. P. 604–611. DOI: 10.1210/en.2016-1540
  16. Nakajo M., Kanda S., Karigo T., et al. Evolutionally conserved function of kisspeptin neuronal system is nonreproductive regulation as revealed by nonmammalian study // Endocrinology. 2018. Vol. 159, No. 1. P. 163–183. DOI: 10.1210/en.2017-00808
  17. Etzion T., Zmora N., Zohar Y., et al. Ectopic over expression of kiss1 may compensate for the loss of Kiss2 // Gen Comp Endocrinol. 2020. Vol. 295. ID113523. DOI: 10.1016/j.ygcen.2020.113523
  18. Ogawa S., Nathan F.M., Parhar I.S. Habenular kisspeptin modulates fear in the zebrafish // PNAS. 2014. Vol. 111, No. 10. P. 3841–3846. DOI: 10.1073/pnas.1314184111
  19. Adekunbi D.A., Li X.F., Lass G., et al. Kisspeptin neurones in the posterodorsal medial amygdala modulate sexual partner preference and anxiety in male mice // J Neuroendocrinol. 2018. Vol. 30, No. 3. ID e12572. DOI: 10.1111/jne.12572
  20. Katalin E., Ibos É.B., Zsolt B., et al. Kisspeptin-8 induces anxiety-like behavior and hypolocomotion by activating the HPA Axis and Increasing GABA release in the nucleus accumbens in rats // Biomedicines. 2021. Vol. 9, No. 2. ID112. DOI: 10.3390/biomedicines9020112
  21. Rao Y.S., Mott N.N., Pak T.R. Effects of kisspeptin on parameters of the HPA axis // Endocrine. 2011. Vol. 39, No. 3. P. 220–228. DOI: 10.1007/s12020-011-9439-4
  22. Thomson E.L., Patterson M., Murphy K.G., et al. Central and peripheral administration of Kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis // J Neuroendocrinol. 2004. Vol. 16, No. 10. P. 850–858. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2004.01240.x
  23. Csabafi K., Jászberényi M., Bagosi Z., et al. Effects of kisspeptin-13 on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thermoregulation, anxiety and locomotor activity in rats // Behav Brain Res. 2013. Vol. 241. P. 56–61. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.11.039
  24. Telegdy G., Adamik A. The action of kisspeptin-13 on passive avoidance learning in mice. Involvement of transmitters // Behav Brain Res. 2013. Vol. 243. P. 300–305. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.01.016
  25. Insel T.R. The challenge of translation in social neuroscience: A review of oxytocin, vasopressin, and affiliative behavior // Neuron. 2010. Vol. 65, No. 6. P. 768–779. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.03.005
  26. Bromberg-Martin E.S., Matsumoto M., Hikosaka O. Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting // Neuron. 2010. Vol. 68, No. 5. P. 815–834. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.11.022
  27. Johnson C.S., Hong W., Micevych P.E. Posterodorsal medial amygdala regulation of female social behavior: GABA versus glutamate projections // J Neurosci. 2021. Vol. 41, No. 42. P. 8790–8800. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1103-21.2021
  28. Tanaka M., Csabafi K., Telegdy G. Neurotransmissions of antidepressant like effects of Kisspeptin-13 // Regul Pept. 2013. Vol. 180. P. 1–4. DOI: 10.1016/j.regpep.2012.08.017
  29. Nathan F.M., Ogawa S., Parhar I.S. Kisspeptin1 modulates odorant-evoked fear response via two serotonin receptor subtypes (5-HT1A and 5-HT2) in zebrafish // J Neurochem. 2015. Vol. 133, No. 6. P. 870–878. DOI: 10.1111/jnc.13105
  30. Лебедев А.А., Блаженко А.А., Гольц В.А., и др. Действие аналогов кистепептина на поведение *Danio rerio* // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2022. Т. 20, № 2. С. 201–210. DOI: 10.17816/RCF202201-210
  31. 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 феназепамы // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017. Т. 15, № 3. С. 57–63. DOI: 10.17816/RCF15357-63
  32. Shabanov P.D., Blazhenko A.A., Devyashin A.S., et al. In search of new brain biomarkers of stress // Research Results in Pharmacology. 2021. Vol. 7, No. 1. P. 41–46. DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.63326
  33. Cachat J., Stewart A., Grossman L., et al. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult *Danio rerio* // Nature protocols. 2010. Vol. 5, No. 11. P. 1786–1789. DOI: 10.1038/nprot.2010.140
  34. Девашин А.С., Блаженко А.А., Лебедев В.А., и др. Оценка дозозависимых эффектов анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере диазепамы у *Danio rerio* // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2020. Т. 18, № 1. С. 43–49. DOI: 10.17816/RCF18143-49
  35. Ереско С.О., Айрапетов М.И., Матвеева Н.А., и др. *Danio rerio* как модельный объект в наркологических исследованиях // Наркология. 2020. Т. 19, № 4. С. 43–48. DOI: 10.25557/1682-8313
  36. Блаженко А.А., Хохлов П.П., Тиссен И.Ю., и др. Устранение стрессогенного повышения грелина в головном мозге *Danio rerio* бензодиазепиновыми транквилизаторами // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2020. Т. 18, № 4. С. 327–332. DOI: 10.17816/RCF184327-332

37. Лебедев В.А., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Возможность использования поведенческих ответов *Danio rerio* в оценке дозозависимых эффектов феназепам // Лабораторные животные для научных исследований. 2018. № 1. С. 1–21. DOI: 10.29926/2618723X-2018-01-02
38. Jakubovski E., Johnson J.A., Nasir M., et al. Systematic review and meta-analysis: Dose-response curve of SSRIs and SNRIs in anxiety disorders // *Depress Anxiety*. 2019. Vol. 36, No. 3. P. 198–212. DOI: 10.1002/da.22854
39. Padala P.R., Padala K.P., Majagi A., et al. Selective serotonin reuptake inhibitors-associated apathy syndrome // *J Medicine*. 2020. Vol. 99, No. 33. ID e21497. DOI: 10.1097/MD.00000000000021497
40. Шагиахметов Ф.Ш. Атипичные антипсихотики: больше сходств или различий? Теоретические предпосылки // Со-

- временная терапия в психиатрии и неврологии. 2014. № 1. С. 14–22.
41. Kaplan H.I., Sadock B.J., Grebb J.A. Synopsis of psychiatry: behavioral sciences clinical psychiatry. 7<sup>th</sup> edition. Williams and Wilkins, 1994. 920 p.
42. Le Doux J.E. Evolution of human emotion: A view through fear // *Prog Brain Res*. 2012. Vol. 195. P. 431–442. DOI: 10.1016/B978-0-444-53860-4.00021-0
43. McDevitt R.A., Hiroi R., Mackenzie S.M., et al. Serotonin 1B autoreceptors originating in the caudal dorsal raphe nucleus reduce expression of fear and depression-like behavior // *Biol Psychiatry*. 2011. Vol. 69, No. 8. P. 780–787. DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.12.029
44. Herbison A.E., de Tassigny X., Doran J., Colledge W.H. Distribution and postnatal development of Gpr54 gene expression in mouse brain and gonadotropin-releasing hormone neurons // *Endocrinology*. 2010. Vol. 151, No. 1. P. 312–321. DOI: 10.1210/en.2009-0552

## REFERENCES

1. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G Protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem*. 2001;276(34):631–636. DOI: 10.1074/jbc.M104847200
2. Quillet R, Ayachi S, Bihel F, et al. RF-amide neuropeptides and their receptors in Mammals: Pharmacological properties, drug development and main physiological functions. *Pharmacol Ther*. 2016;160:84–132. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.02.005
3. Ohtaki T, Shintani Y, Honda SI, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001;411(6837):613–617. DOI: 10.1038/35079135
4. Pampillo M, Camuso N, Taylor JE, et al. Regulation of GPR54 signaling by GRK2 and arrestin. *Mol Endocrinol*. 2009;23(12):2060–2074. DOI: 10.1210/me.2009-0013
5. Szereszewski JM, Pampillo M, Ahow MR, et al. GPR54 regulates ERK1/2 activity and hypothalamic gene expression in a Galpha(q/11) and beta-arrestin-dependent manner. *PLoS One*. 2010;5(9):129–164. DOI: 10.1371/journal.pone.0012964
6. Lee DK, Nguyen T, O'Neill GP, et al. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Lett*. 1999;446(1):103–107. DOI: 10.1016/S0014-5793(99)00009-5
7. Brailoiu GC, Dun SL, Ohsawa M, et al. KiSS-1 expression and metastatin-like immunoreactivity in the rat brain. *J Comp Neurol*. 2005;481(3):314–329. DOI: 10.1002/cne.20350
8. Overgaard A, Tena-Sempere M, Franceschini I, et al. Comparative analysis of kisspeptin-immunoreactivity reveals genuine differences in the hypothalamic Kiss1 systems between rats and mice. *Peptides*. 2013;45:85–90. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.04.013
9. Higo S, Honda S, Iijima N, Ozawa H. Mapping of kisspeptin receptor mRNA in the whole rat brain and its co-localisation with oxytocin in the paraventricular nucleus. *J Neuroendocrinol*. 2016;28(4):1–8. DOI: 10.1111/jne.12356
10. Parhar IS, Ogawa S, Sakuma Y. Laser-captured single digoxigenin-labeled neurons of gonadotropin-releasing hormone types reveal a novel G protein-coupled receptor (Gpr54) during maturation in cichlid fish. *Endocrinology*. 2004;145(8):3613–3618. DOI: 10.1210/en.2004-0395
11. Ogawa S, Parhar IS. Functions of habenula in reproduction and socio reproductive behaviours. *Front Neuroendocrinol*. 2021;64:100964. DOI: 10.1016/j.yfrne.2021.100964
12. Kitahashi T, Ogawa S, Parhar IS. Cloning and expression of Kiss2 in the zebrafish and medaka. *Endocrinology*. 2009;150(2):821–831. DOI: 10.1210/en.2008-0940
13. Ogawa S, Parhar IS. Biological significance of kisspeptin-Kiss 1 receptor signaling in the habenula of teleost species. *Front Endocrinol*. 2018;9:222. DOI: 10.3389/fendo.2018.00222
14. Tang H, Liu Y, Luo D, et al. The Kiss/Kissr systems are dispensable for zebrafish reproduction: Evidence from gene knockout studies. *Endocrinology*. 2015;156(2):589–599. DOI: 10.1210/en.2014-1204
15. Liu Y, Tang H, Xie R, et al. Genetic evidence for multifactorial control of the reproductive axis in zebrafish. *Endocrinology*. 2017;158(3):604–611. DOI: 10.1210/en.2016-1540
16. Nakajo M, Kanda S, Karigo T, et al. Evolutionally conserved function of kisspeptin neuronal system is nonreproductive regulation as revealed by nonmammalian study. *Endocrinology*. 2018;159(1):163–183. DOI: 10.1210/en.2017-00808
17. Etzion T, Zmora N, Zohar Y, et al. Ectopic over expression of kiss1 may compensate for the loss of Kiss2. *Gen Comp Endocrinol*. 2020;295:113523. DOI: 10.1016/j.ygcen.2020.113523
18. Ogawa S, Nathan FM, Parhar IS. Habenular kisspeptin modulates fear in the zebrafish. *PNAS*. 2014;111(10):3841–3846. DOI: 10.1073/pnas.1314184111
19. Adekunbi DA, Li XF, Lass G, et al. Kisspeptin neurones in the posterodorsal medial amygdala modulate sexual partner preference and anxiety in male mice. *J Neuroendocrinol*. 2018;30(3):e12572. DOI: 10.1111/jne.12572
20. Katalin E, Ibos ÉB, Zsolt B, et al. Kisspeptin-8 induces anxiety-like behavior and hypolocomotion by activating the HPA Axis and Increasing GABA release in the nucleus accumbens in rats. *Biomedicine*. 2021;9(2):112. DOI: 10.3390/biomedicine9020112
21. Rao YS, Mott NN, Pak TR. Effects of kisspeptin on parameters of the HPA axis. *Endocrine*. 2011;39(3):220–228. DOI: 10.1007/s12020-011-9439-4
22. Thomson EL, Patterson M, Murphy KG, et al. Central and peripheral administration of Kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Neuroendocrinol*. 2004;16(10):850–858. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2004.01240.x
23. Csabafi K, Jászberényi M, Bagosi Z, et al. Effects of kisspeptin-13 on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thermoregulation,

anxiety and locomotor activity in rats. *Behav Brain Res.* 2013;241:56–61. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.11.039

24. Telegdy G, Adamik A. The action of kisspeptin-13 on passive avoidance learning in mice. Involvement of transmitters. *Behav Brain Res.* 2013;243:300–305. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.01.016

25. Insel TR. The challenge of translation in social neuroscience: A review of oxytocin, vasopressin, and affiliative behavior. *Neuron.* 2010;65(6):768–779. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.03.005

26. Bromberg-Martin ES, Matsumoto M, Hikosaka O. Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. *Neuron.* 2010;68(5):815–834. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.11.022

27. Johnson CS, Hong W, Micevych PE. Posterodorsal medial amygdala regulation of female social behavior: GABA versus glutamate projections. *J Neurosci.* 2021;41(42):8790–8800. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1103-21.2021

28. Tanaka M, Csabafi K, Telegdy G. Neurotransmissions of antidepressant like effects of Kisspeptin-13. *Regul Pept.* 2013;180:1–4. DOI: 10.1016/j.regpep.2012.08.017

29. Nathan FM, Ogawa S, Parhar IS. Kisspeptin1 modulates odorant-evoked fear response via two serotonin receptor subtypes (5-HT1A and 5-HT2) in zebrafish. *J Neurochem.* 2015;133(6):870–878. DOI: 10.1111/jnc.13105

30. Lebedev AA, Blazhenko AA, Goltz VA, et al. Effects of kisspeptin analogues on the behavior of *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2022;20(2):201–210. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF202201-210

31. 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.) DOI: 10.17816/RCF15357-63

32. Shabanov PD, Blazhenko AA, Devyashin AS, et al. In search of new brain biomarkers of stress. *Research Results in Pharmacology.* 2021;7(1):41–46. DOI: 10.3897/rpparmacology.7.63326

33. Cachat J, Stewart A, Grossman L, et al. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult *Danio rerio*. *Nature protocols.* 2010;5(11):1786–1789. DOI: 10.1038/nprot.2010.140

34. Devyashin AS, Blazhenko AA, Lebedev VA, et al. Assessment of dose-dependent effects of anxiolytics of benzodiazepine struc-

ture with diazepam as an example in *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2020;18(1):43–49. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF18143-49

35. Eresko SO, Airapetov MI, Matveeva NA, et al. *Danio rerio* as a model object in drug research. *Narcology.* 2020;19(4):43–48. (In Russ.) DOI: 10.25557/1682-8313

36. Blazhenko AA, Khokhlov PP, Tissen IY, et al. Benzodiazepine tranquilizers abolish the stress-induced increase of the brain ghrelin level in *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2020;18(4):327–332. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF184327-332

37. Lebedev VA, Lebedev AA, Bychkov ER, Shabanov PD. Probability of using the behavioral responses of *Danio rerio* in assessment of dose-dependent effects of phenazepam. *Laboratory Animals for Science.* 2018;(1):1–21. (In Russ.) DOI: 10.29926/2618723X-2018-01-02

38. Jakubovski E, Johnson JA, Nasir M, et al. Systematic review and meta-analysis: Dose-response curve of SSRIs and SNRIs in anxiety disorders. *Depress Anxiety.* 2019;36(3):198–212. DOI: 10.1002/da.22854

39. Padala PR, Padala KP, Majagi A, et al. Selective serotonin reuptake inhibitors-associated apathy syndrome. *J Medicine.* 2020;99(33):e21497. DOI: 10.1097/MD.00000000000021497

40. Shagiakhmetov FSh. Atypical anti-psychoterrorial election commissions: it is more than similarities or distinctions? Theoretical preconditions. *Sovremennaya terapiya v psikhiiatrii i nevrologii.* 2014;(1):14–22. (In Russ.)

41. Kaplan HI, Sadock BJ, Grebb JA. *Synopsis of psychiatry: behavioral sciences clinical psychiatry.* 7<sup>th</sup> edition. Williams and Wilkins, 1994. 920 p.

42. Le Doux JE. Evolution of human emotion: A view through fear. *Prog Brain Res.* 2012;195:431–442. DOI: 10.1016/B978-0-444-53860-4.00021-0

43. McDevitt RA, Hiroi R, Mackenzie SM, et al. Serotonin 1B autoreceptors originating in the caudal dorsal raphe nucleus reduce expression of fear and depression-like behavior. *Biol Psychiatry.* 2011;69(8):780–787. DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.12.029

44. Herbison AE, de Tassigny X, Doran J, Colledge WH. Distribution and postnatal development of Gpr54 gene expression in mouse brain and gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology.* 2010;151(1):312–321. DOI: 10.1210/en.2009-0552

## ОБ АВТОРАХ

\***Владанка Александровна Гольц**, аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; адрес: Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: digitalisobscura@mail.ru

**Андрей Андреевич Лебедев**, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией общей фармакологии отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0297-0425>; eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

**Александра Александровна Блаженко**, мл. науч. сотр. отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; eLibrary SPIN: 8762-3604; e-mail: alexandrablazhenko@gmail.com

## AUTHORS' INFO

\***Vladanka A. Goltz**, postgraduate student, S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; address: 12 Akademika Pavlova st., Saint Petersburg, 197022, Russia; e-mail: digitalisobscura@mail.ru

**Andrei A. Lebedev**, Dr. Biol. Sci. (Pharmacology), head of the Laboratory of General Pharmacology of the S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0297-0425>; eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

**Aleksandra A. Blazhenko**, junior research assistant of the S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; eLibrary SPIN: 8762-3604; e-mail: alexandrablazhenko@gmail.com

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## ОБ АВТОРАХ

**Виктор Андреевич Лебедев**, канд. биол. наук, научн. сотр. отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-8106>; eLibrary SPIN: 1878-8392; e-mail: vitya-lebedev-57@mail.ru

**Сергей Владимирович Казаков**, аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; e-mail: svkazakov@mail.ru

**Аликбер Азизович Байрамов**, д-р мед. наук, вед. научн. сотр.; e-mail: alekber@mail.ru

**Платон Платонович Хохлов**, канд. биол. наук, ст. научн. сотр. отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; e-mail: platonkh@list.ru

**Евгений Рудольфович Бычков**, канд. мед. наук, заведующий лабораторией химии и фармакологии лекарственных средств отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8911-6805>; eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

**Сарнг Саналович Пурвеев**, научн. сотр. отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4467-2269>; eLibrary SPIN: 5915-9767; e-mail: dr.purveev@gmail.com

**Петр Дмитриевич Шабанов**, д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

## AUTHORS' INFO

**Viktor A. Lebedev**, Cand. Sci. (Biol.), research assistant of the S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-8106>; eLibrary SPIN: 1878-8392; e-mail: vitya-lebedev-57@mail.ru

**Sergei V. Kazakov**, postgraduate student of the S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; e-mail: svkazakov@mail.ru

**Alikber A. Bayramov**, Dr. Sci. (Med.), leading research associate; e-mail: alekber@mail.ru

**Platon P. Khokhlov**, Cand. Sci. (Biol.), senior research associate of the S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; e-mail: platonkh@list.ru

**Eugenii R. Bychkov**, Cand. Med. Sci. (Pathophysiology), head of the Laboratory of Chemistry and Pharmacology of Medicinal Compounds of the S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8911-6805>; eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

**Sarng S. Purveev**, research associate of the S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4467-2269>; eLibrary SPIN: 5915-9767; e-mail: dr.purveev@gmail.com

**Petr D. Shabanov**, Dr. Sci. (Med.), professor and head of the S.V. Anichkov Department of Neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru