ОЦЕНКА ДОЗОЗАВИСИМЫХ ЭФФЕКТОВ АНКСИОЛИТИКОВ БЕНЗОДИАЗЕПИНОВОГО РЯДА НА ПРИМЕРЕ ДИАЗЕПАМА У DANIO RERIO

УДК 615.214.32

https://doi.org/10.7816/RCF18143-49

© А.С. Девяшин, А.А. Блаженко, В.А. Лебедев, А.А. Лебедев, Е.Р. Бычков, П.Д. Шабанов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Девяшин А.С., Блаженко А.А., Лебедев В.А., и др. Оценка дозозависимых эффектов анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере диазепама у *Danio rerio.* – 2020. – Т. 18. – № 1. – С. 43–49. https://doi.org/10.7816/RCF18143-49

Поступила: 14.01.2020 Одобрена: 18.02.2020 Принята: 19.03.2020

Цель. Исследование действия анксиолитика бензодиазепинового ряда диазепама при сравнении с ранее изученным действием феназепама у Danio rerio. Методы. Использовали тест стресса новизны: рыбу помещали сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или водой), 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». Результаты. Показано, что в ответ на новизну помещения в просмотровый аквариум рыбы реагируют погружением на дно, увеличением фризинга и снижением числа перемещений в верхнюю половину аквариума. На фоне введения диазепама рыбы находились уже не только в нижней, но и в верхней части просмотрового аквариума. Фармакологический анализ анксиолитического действия диазепама у Danio rerio показал, что анксиолитик в опреленном диапазоне доз

1-10 мг/л снижает (по сравнению с контрольной группой рыб) число и время фризинга, увеличивает число перемещений в верхнюю половину аквариума и время плавания в последней. Диазепам вызывает растормаживание двигательный активности в дозах 1 и 5 мг/л, что может объясняться действием малых доз транквилизаторов на пресинаптические ГАМК-А ауторецепторы. В дозе 20 мг/л диазепам оказывает депримирующий эффект. Заключение. Диазепам действует у Danio rerio в более высоком диапазоне доз (1-10 мг/л), чем феназепам (0,1-1 мг/л). В то же время для диазепама характерен куполообразный дозозависимый эффект в отличие от действия феназепама. Перспектива использования Danio rerio в качестве животной модели в поведенческой фармакологии не уступает (а даже по ряду позиций превосходит) исследованиям на грызунах.

◆ Ключевые слова: *Danio rerio*; поведение; стресс новизны; транквилизаторы; диазепам; феназепам.

ASSESSMENT OF DOSE-DEPENDENT EFFECTS OF ANXIOLYTICS OF BENZODIAZEPINE STRUCTURE WITH DIAZEPAM AS AN EXAMPLE IN DANIO RERIO

© A.S. Devyashin, A.A. Blazhenko, V.A. Lebedev, A.A. Lebedev, E.R. Bychkov, P.D. Shabanov Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Devyashin AS, Blazhenko AA, Lebedev VA, et al. Assessment of dose-dependent effects of anxiolytics of benzodiazepine structure with diazepam as an example in *Danio rerio. Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2020;18(1):43-49. https://doi.org/10.17816/RCF18143-49

Received: 14.01.2020 Revised: 18.02.2020 Accepted: 19.03.2020

Abstract. The effect of benzodiazepine anxiolytic diazepam in *Danio rerio* was investigated. Methods. A stress test on novelty situation was used: a fish was placed first in a beaker with a dissolved pharmacological substance (or water) and then into a novel tank for 6 min, where the trajectory, the path length, the number of movements to the upper part of the novel tank, the number and time of the pattern of "freezing" of the experiment were measured. Results. In response to the novelty of tank, the fish was shown to react by submerging to the bottom, increasing the freezing, and reducing the number of movements to

the upper half of the novel tank. After diazepam exposure (administration), the fish was not only in the lower, but also in the upper part of the novel tank. A pharmacological analysis of diazepam effect in *Danio rerio* showed that in a certain dose range of 1–10 mg/l anxiolytic reduces (in comparison with the control group of fish) the number and time of freezing, increases the number of movements in the upper half of the tank and the swimming time in upper part of the tank. Diazepam causes a disinhibition of motor activity at doses of 1 and 5 mg/l, which may be explained by the effect of small doses of tranquilizers on presynaptic

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

GABA-A autoreceptors. Diazepam 20 mg/l has a depriving effect. **Conclusion.** Diazepam acts in a higher dose range (1–10 mg/l) than phenazepam (0.1–1 mg/l) in *Danio rerio*. At the same time, diazepam is characterized by a domed dosedependent effect, in contrast to the action of phenazepam.

The prospect of using *Danio rerio* as an animal model in behavioral pharmacology is not inferior to studies in rodents.

◆ **Keywords:** *Danio rerio*; behavior; novelty stress; tranquilizers; diazepam; fenazepam.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы действие психотропных средств, в частности анксиолитиков и анксиогенов, исследовано у Danio rerio [28, 30], что коррелировало с уровнем кортизола в крови [14]. Поведенческие эффекты у Danio rerio ранее показаны также после применения этанола [15, 16], никотина [19], морфина [9], фенамина [25], бензодиазепинов [5] и кокаина [21]. Действие стресса на поведение у Danio rerio можно исследовать в ряде тестов, таких как свет-темнота [23, 25], Т-образный лабиринт [26], «открытое поле» [20], стресс новизны [4].

Тест стресса новизны используется для изучения тревожно-фобических реакций у Danio rerio [2, 4]. При этом животные демонстрируют стабильные поведенческие ответы под действием стресса новизны [4-6, 19]. Данный поведенческий тест основывается на инстинкте поиска защиты от незнакомой обстановки погружением на дно, фризингом (обездвиживанием или «примерзанием») и снижением двигательного (и исследовательского) поведения. После адаптации (акклиматизации) к новой обстановке двигательная активность увеличивается, уменьшается фризинг и увеличивается число переходов в верхнюю половину аквариума [22-24, 30]. Подобное поведение традиционно анализируется в тесте «открытое поле» в исследованиях тревожности у грызунов [1, 3, 10, 12, 29]. В тесте новизны Danio rerio помещается сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или водой), а затем в небольшой просмотровый аквариум, где регистрируются двигательная активность, фризинг, число переходов в верхнюю половину аквариума и время нахождения в последней [11]. В последние годы для регистрации поведения Danio rerio применяют компьютерный анализ видеотрека, что в свою очередь позволяет более детально, с высокой точностью изучить эффекты фармакологических веществ [6-8, 14, 15]. Ранее нами было показано анксиолитическое действие транквилизатора феназепама у Danio rerio [2, 4].

Целью настоящей работы было проведение фармакологического анализа действия анксиолитика бензодиазепинового ряда диазепама и сравнить с описанным нами ранее действием феназепама у Danio rerio.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использованы 198 молодых половозрелых рыб *Danio rerio* (zebrafish) в возрасте 6–8 мес. (жизненный цикл до 5 лет) фирмы «Аква Питер» и выращенные в ФГБНУ «ИЭМ» — Danio rerio, дикий тип (wildtype). Для тестирования использовали интактных животных после двухнедельного периода адаптации к помещению и аквариумам водоизмещением 40 л по 20-30 рыбок в каждом. Температуру воды $25-27~^{\circ}$ С поддерживали постоянно. Животных содержали в стандартных условиях светового режима (8.00-20.00) при температуре помещения $22\pm2~^{\circ}$ С, кормили дважды в день стандартным кормом tetramin tropical flakes.

Для экспериментов оценки теста стресса новизны применяли стандартный просмотровый аквариум, который используется для изучения тревожно-фобических реакций у Danio rerio [2, 4, 6]. Он имел водоизмещение 1,5 л, трапециевидную форму, высоту 15 см и ширину 7 см. Длина аквариума в основании составляла 22 см. а 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 [14, 18], 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 ($10 \times 10 \times 10$ см) на 5 мин и далее в просмотровый 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. 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.

Для фармакологического анализа использовали субстанцию диазепама ФГУП «Московский эндокринный завод» (Россия). Диазепам растворяли в воде для аквариумов и применяли в шести дозах: 1) 0,1 мг/л воды; 2) 0,5 мг/л; 3) 1 мг/л; 4) 5 мг/л; 5) 10 мг/л; 6) 20 мг/л воды.

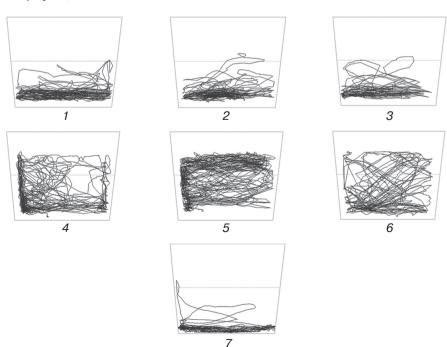
Для статистической обработки полученных данных применяли пакеты Statistica, v. 6 и Origin, v. 7.5. Нормальность распределений оценивали при помощи критерия Колмогорова – Смирнова, значимость различий между группами — при помощи t-критерия Стьюдента, либо U-критерия Манна – Уитни. Данные представлены в виде среднего арифметического t- среднеквадратичное отклонение.

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 (см. рисунок, 1). Средняя длина пути рыбы, который автоматически регистрировался по продолжительности трека, составляла 1013,7 ± 118,3 см (см. таблицу). При этом часто наблюдали фризинг (примерзание, время полной неподвижности). Число и время паттерна «фризинг» автоматически регистрировались и составляли за опыт 58.4 ± 7.8 и 29.2 ± 4.5 с соответственно. Среднее время пребывания рыбы в нижней части аквариума — $359,1 \pm 6,4$ с. Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума за опыт — $2,1 \pm 1,1$.

На фоне введения диазепама были выявлены типичные для анксиолитика поведенческие реакции на новизну (то есть на помещение животного в просмотровый аквариум). Как правило, рыбы не только находились в это время в нижней части просмотрового аквариума, но и часто заплывали

в верхнюю его часть (см. рисунок, 2-7). На фоне диазепама средняя длина пути рыбы повышалась достоверно ($p \le 0.05$) при использовании диазепема в дозах 1 и 5 мг/л по сравнению с контрольной группой животных и составляла соответственно $1305,3 \pm 187,4$ и 1365 ± 173 см. При этом так же, как и в контроле, наблюдали фризинг. Число и время паттерна «фризинг» достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных (p < 0.05) и зависили от дозы. Наименьшие значения числа и времени фризинга наблюдали после введения диазепама в дозе 5 мг/л, эти показатели составляли $23,6 \pm 7,4$ и $11,8 \pm 3,8$ с соответственно. Среднее время пребывания рыбы в нижней части аквариума также достоверно снижалось по сравнению с контрольной группой животных (p < 0.05) и составляло при введении 1, 5 и 10 мг/л диаземама 283,5 \pm 13,6, 241,8 \pm 18,9 и $302,6 \pm 11,7$ с соответственно (см. таблицу). Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума за опыт достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных (р < 0,05) и составляло при введении 1 и 5 мг/л препарата $12,5 \pm 2,4$ и $21,8 \pm 5,4$ с соответственно, проявляя куполообразный дозозависимый эффект. При использовании диазепама в дозе 20 мг/л длина траектории движения и число перемещений в верхнюю часть аквариума снижались, а время в нижней части аквариума достоверно увеличивалось относительно группы рыб с введением диазепама в дозе 10 мг/л (p < 0.05). Плотность движений рыб при этом была строго приурочена ко дну просмотрового аквариума (см. рисунок, 7) по сравнению с контрольными животными.



Примеры нативных треков движения *Danio rerio* при использовании разных доз (концентраций) диазепама. 1 — контроль (вода); 2 — диазепам в дозе 0,1 мг/л; 3 — 0,5 мг/л; 4 — 1 мг/л; 5 — 5 мг/л; 6 — 10 мг/л; 7 — 20 мг/л

TT V	v			
Пеиствие новых	соединений на основе	кумарина на г	повеление в тесте «отк	рытое поле» у крыс

Группа		Число фризингов, <i>п</i>	Суммарное время паттерна фризинг, с	Длина траектории движения, см	Время в нижней части аквариума, с	Число переме- щений в верхнюю часть аквариума, <i>п</i>
Вода (контроль)		58,4 ± 7,8	29,2 ± 4,5	1013,7 ± 118,3	359,1 ± 6,4	2,1 ± 1,1
	0,1	57,6 ± 11,5	28,8 ± 5,2	1195,4 ± 223,8	358,6 ± 1,2	2,3 ± 0,6
	0,5	63,7 ± 9,4	31,9,8 ± 4,7	1086,7 ± 206,2	359,1 ± 1,8	1,4 ± 0,3
Диазепам	1	34,2 ± 8,1*	17,1 ± 6,3	1305,3 ± 187,4*	283,5 ± 13,6*	12,5 ± 2,4*
в дозе (мг/л)	5	23,6 ± 7,4*	11,8 ± 3,8*	1365 ± 173*	241,8 ± 18,9*	21,8 ± 5,4*
	10	57,6 ± 8,7	28,8 ± 4,4	1283,4 ± 214,9	302,6 ± 11,7*	5,4 ± 0,8
	20	68,4 ± 13,8	34,2 ± 6,9	831 ± 90,8#	359,4 ± 0,5#	1,6 ± 0,8#

Примечание. Дозы диазепама представлены в виде концентраций препарата на 1 л воды. * p < 0.05 — относительно группы рыб с чистой водой (контроль) в просмотровом аквариуме; * p < 0.05 — относительно группы рыб с введением диазепама 10 мг/л в просмотровом аквариуме.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Настоящие исследования показали, что реакция на новизну помещения в просмотровый аквариум y Danio rerio (zebrafish) имеет типичную картину паттернов поведения. В ответ на незнакомую обстановку просмотрового аквариума рыба реагировала погружением на дно, фризингом (обездвиживанием или «примерзанием») и снижением двигательного поведения. Как правило, рыба большую часть времени находилась в нижней части просмотрового аквариума и совершала небольшие перемещения вдоль него (см. рисунок). При этом часто наблюдали фризинг, число и время которого за опыт были достаточно велики, как и время пребывания рыбы в нижней части аквариума. Динамика времени пребывания рыбы в нижнем отсеке практически не изменялась, так же как динамика времени пребывания рыбы в верхнем отсеке и динамика числа перемещений рыбы в верхний отсек.

Полученные результаты во многом согласуются с данными литературы. В частности, отмечается, что тестирование стресса новизны применяется в ряде лабораторий для исследования уровня тревожности у Danio rerio [5, 6, 19]. При этом рыбы, как правило, плавают в нижней части аквариума и часто замирают (демонстрируя фризинг). Двигательное (и исследовательское) поведение значительно снижается по сравнению с поведением в домашнем аквариуме [20, 30]. После периода адаптации к просмотровому аквариуму поведение становится во многом подобно таковому в домашнем аквариуме, то есть двигательная активность увеличивается, уменьшается фризинг и увеличивается число переходов в верхнюю половину аквариума [5, 6, 26].

Настоящее исследование выявило ряд типичных паттернов поведения у *Danio rerio* после введения диазепама. При этом рыбы плавали не только в нижней части просмотрового аквариума, но и стали больше подниматься вверх, особенно при использовании деазепама в дозе 5 мг/л (см. рисунок, 5).

Число и время паттерна «фризинг» после введения диазепама достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных в дозах 1 и 5 мг/л. Время пребывания рыбы в нижней части аквариума после введения диазепама значительно снижалось, особенно при использовании препарата в дозах 1, 5 и 10 мг/л. Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума после введения диазепама достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных, особенно при использовании препарата в дозе 5 мг/л. Необходимо отметить, что в низких (0,1 и 0,5 мг/л) и высокой дозе (20 мг/л) достоверных различий не наблюдали по представленным показателям при сравнении с контрольными животными. Ранее нами было показано, что транквилизатор бензодиазепинового ряда феназепам дозозависимо (0,1-1 мг/л) оказывает анксиолитический эффект в оценке новизны у Danio rerio. Длина траектории рыбы после введения феназепама существенно не увеличивалась по сравнению с контрольной группой животных в отличие от действия диазепама (достоверное увеличение траектории движения в дозах 1 и 5 мг/л). Число и время паттерна «фризинг» после введения феназепама достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных, при этом регистрировали дозозависимый эффект, что весьма важно. Время пребывания рыбы в нижней части аквариума после введения феназепама значительно снижалось, особенно при дозе 0.5 и 1 мг/л. Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума после введения феназепама достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных, особенно при использовании препарата в дозе 1 мг/л. Таким образом, диазепам действует в более высоком диапазоне доз, чем феназепам, и вызывает повышение двигательной активности, что не характерно для транвилизаторов. В то же время для диазепама в отличие от феназепама характерен куполообразный дозозависимый эффект.

Полученные результаты не противоречат литературным данным. Так, тестирование анксиолитиков в ряде лабораторий с целью изучения противотре-

вожного эффекта у Danio rerio продемонстрировало достаточно типичную картину поведенческих паттернов рыб, аналогичную полученным нами результатам [5, 6, 13, 19]. При этом паттерны поведения под действием транквилизаторов у Danio rerio сходны с таковыми у грызунов (крысы, мыши) наиболее частом объекте изучения транквилизаторов. В настоящей работе был проведен фармакологический анализ действия бензодиазепинового транквилизатора диазепама. В литературе описаны анксиолитические эффекты диазепама [11, 12], хлордиазепоксида [5] и феназепама [2, 4] у Danio rerio. Отмечено, что бензодиазепиновые анксиолитики диазепам и хлордиазепоксид не уступают по выраженности противотревожного эффекта агонисту 5НТ1А-рецепторов буспирону. Единственным отличием в действии бензодиазепиновых препаратов авторы называют пороговую анксиолитическую дозу, на которую Danio rerio реагируют без седативного эффекта, то есть без снижения двигательной активности [5]. Более того, в наших опытах выявлена характеристика действия диазепама, заключающаяся в снятии стресса новизны с увеличением двигательной активности (не типичный анксиолитический эффект). Этот эффект транквилизатора диазепама может объясняться растормаживанием вследствие активации пресинаптических ГАМК-А-рецепторов [31]. При использовании диазепама в дозе 20 мг/л движения рыб были строго приурочены ко дну просмотрового аквариума (см. рисунок, 7) по сравнению с контрольными животными, что говорит о депримирующем действии транквилизатора при повышении его дозы. Полученные характеристики диазепама, безусловно, могут быть использованы и при оценке других классов (групп) лекарственных препаратов, что открывает определенные перспективы использования Danio rerio в качестве недорогого, но достаточно информативного теста для целей фармакологии.

выводы

- 1. Фармакологический анализ анксиолитического действия диазепама у Danio rerio показал, что диазепам в опреленном диапазоне доз 1–10 мг/л снижает (по сравнению с контрольной группой рыб) число и время фризинга, увеличивает число перемещений в верхнюю половину аквариума и время плавания в последней.
- 2. Диазепам вызывает растормаживание двигательный активности в дозах 1 и 5 мг/л и действует в более высоком диапазоне доз (1–10 мг/л) у Danio rerio по сравнению с анксиолитиком бензодиазепинового ряда феназепамом (0,1–1 мг/л). В то же время для диазепама характерен куполообразный дозозависимый эффект в отличие от действия феназепама. В дозе 20 мг/л диазепам оказывает депримирующий эффект.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Лебедев А.А., Пшеничная А.Г., Бычков Е.Р., и др. Антагонист рецепторов кортиколиберина астрессин снимает тревожно-фобические состояния у крыс, выращенных в социальной изоляции // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2016. Т. 14. № 4. С. 24–31. [Lebedev AA, Pshenichnaya AG, Bychkov ER, et al. Astressin, an antagonist of CRF receptors, reduces anxiety and fobial states in rats reared in social isolation conditions. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2016;14(4):24-31. (In Russ.)] https://doi.org/10.17816/RCF14424-31.
- 2. Лебедев В.А., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Возможность использования поведенческих ответов Danio rerio в оценке дозозависимых эффектов феназепама // Лабораторные животные для научных исследований. 2018. № 1. С. 12–21. [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. Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy. 2018;(1):12-21. (In Russ.)]. https://doi.org/10.29296/26 18723X-2018-01-02.
- 3. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Якушина Н.Д., и др. Моделирование обсессивно-компульсивного и аддиктивного игрового поведения у крыс введением фенамина в тесте закапывания шариков // Наркология. 2017. Т. 16. № 1. С. 32–38. [Shabanov PD, Lebedev AA, Yakushina ND, et al. Modeling the obsessive-compulsive and addictive gambling behavior in a rat marble test by means of amphetamine administration. *Narkologiia*. 2017;16(1):32-38. (In Russ.)]
- 4. 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 феназепама // 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.
- Bencan Z, Sledge D, Levin ED. Buspirone, chlordiazepoxide and diazepam effects in a zebrafish model of anxiety. Pharmacol Biochem Behav. 2009;94(1):75-80. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.07.009.
- Blaser R, Gerlai R. Behavioral phenotyping in zebrafish: comparison of three behavioral quantification methods. Behav Res Methods. 2006;38(3):456-469. https://doi. org/10.3758/bf03192800.
- 7. Best JD, Alderton WK. Zebrafish: An in vivo model for the study of neurological diseases. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2008;4(3):567-576. https://doi.org/10.2147/ndt.s2056.
- 8. Best JD, Berghmans S, Hunt JJ, et al. Non-associative learning in larval zebrafish. *Neuropsychopharmacology*.

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

- 2008;33(5):1206-1215. https://doi.org/10.1038/sj.npp. 1301489.
- Bretaud S, Li Q, Lockwood BL, et al. A choice behavior for morphine reveals experience-dependent drug preference and underlying neural substrates in developing larval zebrafish. *Neuroscience*. 2007;146(3):1109-1116. https:// doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.12.073.
- Bronikowski AM, Carter PA, Swallow JG, et al. Open-field behavior of house mice selectively bred for high voluntary wheel-running. *Behav Genet*. 2001;31(3):309-316. https://doi.org/10.1023/a:1012283426530.
- Cachat J, Stewart A, Grossman L, et al. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult zebrafish. *Nat Protoc*. 2010;5(11):1786-1799. https://doi.org/10.1038/nprot.2010.140.
- Choleris E, Thomas AW, Kavaliers M, Prato FS. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neurosci Biobehav Rev.* 2001;25(3):235-260. https://doi.org/10.1016/s0149-7634(01)00011-2.
- 13. Creton R. Automated analysis of behavior in zebrafish larvae. *Behav Brain Res.* 2009;203(1):127-136. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.04.030.
- 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.
- Gerlai R. Event recording and video-tracking: towards the development of high-throughput *Danio rerio* screens.
 In: Proceedings of the 5th Conference on Methods in Behavioral Research; Wageningen, 30 Aug–2 Sep 2005. Wageningen; 2005. P. 193-197.
- Gerlai R, Lee V, Blaser R. Effects of acute and chronic ethanol exposure on the behavior of adult zebrafish (*Danio rerio*). *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;85(4):752-761. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.11.010.
- 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.
- Key B, Devine CA. Zebrafish as an experimental model: strategies for developmental and molecular neurobiology studies. *Methods Cell Sci.* 2003;25(1-2):1-6. https://doi. org/10.1023/B: MICS.0000006849.98007.03.
- Levin ED, Chen E. Nicotinic involvement in memory function in zebrafish. *Neurotoxicol Teratol*. 2004;26(6): 731-735. https://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.06.010.

- 20. Levin ED, Bencan Z, Cerutti DT. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. *Physiol Behav*. 2007;90(1):54-58. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.08.026.
- Lopez-Patino MA, Yu L, Cabral H, Zhdanova IV. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish. *Physiol Behav*. 2008;93(1-2):160-171. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.08.013.
- Maximino C, de Brito TM, Colmanetti R, et al. Parametric analyses of anxiety in zebrafish scototaxis. *Behav Brain Res.* 2010;210(1):1-7. https://doi.org/10.1016/j. bbr.2010.01.031.
- 23. Maximino C, Marques de Brito T, Dias CA, et al. Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. *Nat Protoc*. 2010;5(2): 209-216. https://doi.org/10.1038/nprot.2009.225.
- 24. Miklosi A, Andrew RJ. The zebrafish as a model for behavioral studies. *Zebrafish*. 2006;3(2):227-234. https://doi.org/10.1089/zeb.2006.3.227.
- 25. Ninkovic J, Bally-Cuif L. The zebrafish as a model system for assessing the reinforcing properties of drugs of abuse. *Methods*. 2006;39(3):262-274. https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2005.12.007.
- Sackerman J, Donegan JJ, Cunningham CS, et al. Zebrafish Behavior in Novel Environments: Effects of Acute Exposure to Anxiolytic Compounds and Choice of *Danio rerio* Line. *Int J Comp Psychol.* 2010;23(1):43-61.2879659.
- Spence R, Gerlach G, Lawrence C, Smith C. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2008;83(1):13-34. https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2007.00030.x.
- Stewart A, Wu N, Cachat J, et al. Pharmacological modulation of anxiety-like phenotypes in adult zebrafish behavioral models. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(6):1421-1431. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.11.035.
- 29. Streng J. Open-field behavior in four inbred mouse strains. *Can J Psychol.* 1971;25(1):62-68. https://doi.org/10.1037/h0082368.
- 30. Wong K, Elegante M, Bartels B, et al. Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (*Danio rerio*). *Behav Brain Res.* 2010;208(2):450-457. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.12.023.
- 31. Violle N, Messaoudi M, Lefranc-Millot C, et al. Ethological comparison of the effects of a bovine alpha s1-casein tryptic hydrolysate and diazepam on the behaviour of rats in two models of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;84(3):517-523. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.06.017.

• Информация об авторах

Александр Сергеевич Девяшин — аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург. E-mail: alexsanta93@mail.ru.

Александра Александровна Блаженко— аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург. E-mail: alexandrablazhenko@gmail.com.

Виктор Андреевич Лебедев — канд. биол. наук, младший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

• Information about the authors

Aleksandr S. Devyashin — Post-graduate Fellow, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: alexsanta93@mail.ru.

Aleksandra A. Blazhenko — Post-graduate Fellow, Dept. of Neuro-pharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: alexandrablazhenko@gmail.com.

Viktor A. Lebedev — PhD (Pharmacology), Junior Researcher, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

• Информация об авторах

Андрей Андреевич Лебедев — д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией общей фармакологии отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

Евгений Рудольфович Бычков — канд. мед. наук, заведующий лабораторией химии и фармакологии лекарственных средств отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург. E-mail: bychkov@mail.ru.

Петр Дмитриевич Шабанов — д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Information about the authors

Andrei A. Lebedev — Dr. Biol. Sci. (Pharmacology), Head of the Laboratory of General Pharmacology, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

Eugenii R. Bychkov — PhD (Pathophysiology), Head of the Laboratory of Chemistry and Pharmacology of Medicinal Compounds, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg. Russia. E-mail: bychkov@mail.ru.

Petr D. Shabanov — Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Professor and Head, Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.