

УДК 616-092.9+612.82

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF19171-78>

# Поведенческий анализ анксиолитического действия феназепама в условиях острого психогенного стресса (предъявления хищника) у *Danio rerio*

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

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

Исследовано действие анксиолитиков бензодиазепинового ряда у *Danio rerio* на примере феназепама после предъявления хищника. Использовали тест новизны: рыбу помещали сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или  $H_2O$ ), 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». 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 феназепама рыбы находились уже не только в нижней, но и в верхней части просмотрового аквариума. Средняя длина пути существенно не изменялась в диапазоне использованных доз. Число и время паттерна «фризинг», а также время пребывания в нижней части аквариума снижались более чем в 2 раза по сравнению с контрольной группой животных и проявляли дозозависимый эффект. Число перемещений в верхнюю часть аквариума за опыт существенно увеличивалось с 1 в контроле до 57 при использовании феназепама в дозе 1 мг/л. Предъявление хищника *Hypsophrys nicaraguensis* вызывало у *Danio rerio* увеличение числа фризингов (временного обездвиживания) и снижение длины траектории движения в просмотровом аквариуме для оценки новизны по сравнению с контрольной группой. Феназапам в дозе 1 мг/л снимал эффекты от предъявления хищника, проявляя при этом типичное для него действие: число перемещений в верхнюю часть аквариума за опыт существенно увеличивалось до 30; в 2 раза снижалось время в нижней части аквариума. Сделан вывод о высокой чувствительности теста стресса новизны и теста с хищником для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio*.

**Ключевые слова:** *Danio rerio*; хищник; феназапам; тревожность; страх; анксиолитики.

## Как цитировать:

Лебедев А.А., Девяшин А.С., Блаженко А.А., Казаков С.В., Лебедев В.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Поведенческий анализ анксиолитического действия феназепама в условиях острого психогенного стресса (предъявления хищника) у *Danio rerio* // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2021. Т. 19. № 1. С. 71–78. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF19171-78>

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF19171-78>

## Behavioral analysis of anxiolytic action of phenazepam in conditions of an acute psychogenic stress (predator presentation) in *Danio rerio*

© Andrei A. Lebedev\*, Aleksandr S. Devyashin, Aleksandra A. Blazhenko, Sergei V. Kazakov, Viktor A. Lebedev, Eugeni R. Bychkov, Petr D. Shabanov

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

We studied the effect of benzodiazepine anxiolytic phenazepam after the predator presentation to *Danio rerio*. The test of novelty was used: the fish was placed first in a beaker with a dissolved pharmacological substance (or H<sub>2</sub>O) 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” were measured. It is shown that, in response to the novelty of tank, the fish are reacted by submerging to the bottom, increasing the freezing, and reducing the number of movements to the upper half of the novel tank. After phenazepam administration, the fish were not only in the lower, but also in the upper part of the novel tank. The average path length did not change significantly in the range of doses used. The number and time of the freezing, as well as the time spent in the lower part of the novel tank, decreased more than 2 times compared to the control group of animals and showed a dose-dependent effect. The number of movements to the upper part of the novel tank for the experiment increased significantly from 1 in the control to 57 after phenazepam in a dose of 1 mg/l. At the same time, the number of movements of fish to the upper part of the novel tank significantly increased more than 2 times from 3<sup>th</sup> min of the experiment with the use of phenazepam in a dose of 1 mg/l. Predator presentation (*Hypsophrys nicaraguensis*) caused an increase in the number of freezing (temporary immobilization) and a decrease in the length of the trajectory of movement in the novel tank as compared with the *Danio rerio* control group. Phenazepam at a dose of 1 mg/l removed the effects of a predator, while exhibiting a typical effect: the number of movements to the upper part of the tank during the experiment significantly increased to 30; the time at the bottom of the tank was halved. It was concluded that the novelty stress test and the test with a predator are highly sensitive for studying anxiety-phobic reactions in *Danio rerio*.

**Keywords:** *Danio rerio*; predator; phenazepam; anxiety; fear; anxiolytics.

### To cite this article:

Lebedev AA, Devyashin AS, Blazhenko AA, Kazakov SV, Lebedev VA, Bychkov ER, Shabanov PD. Behavioral analysis of anxiolytic action of phenazepam in conditions of an acute psychogenic stress (predator presentation) in *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2021;19(1):71–78. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF19171-78>

Received: 12.01.2021

Accepted: 04.02.2021

Published: 25.03.2021

## ВВЕДЕНИЕ

Взаимодействия хищника и жертвы — одна из наиболее адекватных моделей естественного психогенного стресса, включающие как уникальные, так и общие характеристики. Такие взаимодействия происходят в нескольких направлениях (от жертвы к хищнику, от хищника к жертве). Жертва может получить информацию от хищника с помощью сигналов: визуальных, обонятельных, акустических и вибрационных. В литературе есть достаточно обширная информация об этих типах восприятия у рыб в ответ на присутствие хищника [4, 13]. Различные комбинации этих сигналов от хищника вызывают тревожно-фобические реакции [9]. Вместе с тем в настоящее время ощущается явный недостаток данных по фармакологическому анализу эффектов предъявления хищника *Danio rerio*.

Исследования поведения *Danio rerio* (zebrafish) применяются в современной нейрофармакологии [7, 11, 16]. Активное плавание, адаптация к новой обстановке, короткий репродуктивный период, высокая плодовитость и низкая себестоимость дают возможность использовать *Danio rerio* в качестве животных моделей для лабораторных исследований [18]. В частности, было исследовано поведение *Danio rerio* после применения анксиолитиков и анксиогенов [1, 19, 20], что коррелировало с уровнем кортизола в крови [10]. Поведенческие эффекты у *Danio rerio* показаны также после применения этанола [11, 12], никотина [14], морфина [8], фенамина [17], бензодиазепинов [6] и кокаина [16]. 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 [11].

Целью настоящей работы было проведение фармакологического анализа действия анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере феназепама у *Danio rerio* после предъявления хищника.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

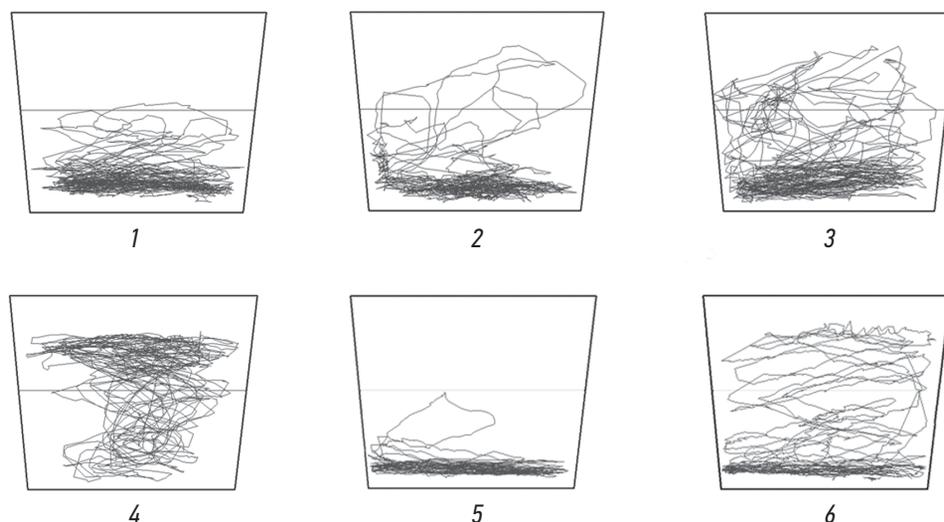
**Выбор животных.** В работе использованы 104 половозрелые рыбы *Danio rerio* (zebrafish) (Cyprinidae, Teleostei) фирмы «Аква Питер» возрастом 6–8 мес. (молодые половозрелые животные, жизненный цикл до 5 лет), выращенные в ФГБНУ «ИЭМ» — *Danio rerio*, дикий тип (wildtype). Для тестирования использовали интактных животных после двухнедельного периода адаптации к помещению и аквариумам водоизмещением 40 л по 20–30 животных в каждом. Температура воды 25–27 °С поддерживалась постоянно. Животных содержали в стандартных условиях светового режима 12/12 ч при температуре помещения 22 ± 2 °С, кормили дважды в день стандартным кормом (Tetramin tropical flakes).

**Тест новизны.** Для экспериментов оценки новизны применяли стандартный просмотрный аквариум, который используется для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio* [7]. Он имел водоизмещение 1,5 л, трапецевидную форму высотой 15 см и шириной 7 см. Длина аквариума в основании составляла 22 см, а в верхней части — 28 см. Такая конструкция аквариума 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 [10], аквариум был разделен чертой на 2 равные части, верхнюю и нижнюю. Рыбка помещалась сначала в мерный стакан водоизмещением 200 мл с растворенным фармакологическим веществом (или H<sub>2</sub>O) 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 регистрировались двигательная активность за опыт (длина трека рыбки), число переходов в верхнюю и нижнюю половины аквариума и время в них. Автоматически регистрировалось число и время паттернов «фризинг» (обездвиживание или «примерзание») за опыт, которые обычно наблюдаются в ответ на новизну и отражают уровень тревожности животного. Поведение регистрировалось автоматически с помощью системы Noldus EthoVision XT7, которая позволяет просмотреть видеотреки рыбки. Система позволяет снимать показания как в цифровом выражении, так и визуально контролировать видеотрек. Весь период наблюдения непрерывно регистрировался, при помощи программы шла запись траектории движения (см. рисунок).

**Модель стресса с хищником.** В экспериментах с хищником рыбку помещали сначала в мерный стакан водоизмещением 200 мл с растворенным фармакологическим веществом (или H<sub>2</sub>O) на 5 мин, затем в предстартовый аквариум с хищником *Hypsophrys nicaraguensis* (10 × 10 × 10 см) на 5 мин и далее в просмотрный аквариум, который обычно используется для оценки новизны стимула, на 6 мин.

**Фармакологические вещества.** Для фармакологического анализа использовали феназепам ОАО «Новосибхимфарм» 1 мг/мл. Феназепам растворяли в воде для аквариумов и применяли в трех дозах: 1) 0,1 мг на 1000 мл воды; 2) 0,5 мг на 1000 мл воды; 3) 1 мг на 1000 мл воды

**Статистические методы анализа.** Оценку статистической достоверности различий проводили при помощи пакета программ SPSS SigmaStat 3,0, Graph Pad Prism 6 с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Для сравнения контрольной и экспериментальных групп использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Из непараметрических критериев использовали критерий Краскела–Уоллиса для сравнения групп. Различия считали статистически значимыми



Траектории движения *Danio rerio* на фоне действия феназепама и хищника: 1 — вода (контроль); 2 — феназепам 0,1 мг/л; 3 — феназепам 0,5 мг/л; 4 — феназепам 1 мг/л; 5 — предъявление хищника; 6 — феназепам 1 мг/л + хищник

при значении  $p < 0,05$ . Для представления полученных данных использовали такие показатели описательной статистики, как среднеарифметическое 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 (см. рисунок).

Средняя длина пути рыбы, который автоматически регистрировался по продолжительности трека, составляла  $1205 \pm 91,8$  см. При этом часто наблюдался 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 (см. таблицу).

Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума за опыт составляло  $1,2 \pm 0,8$ . На фоне введения феназепама были выявлены типичные для анксиолитика поведенческие реакции на новизну (то есть на помещение животного в просмотровый аквариум). Как правило, рыбы находились в это время не только в нижней части просмотрового аквариума, но часто заплывали и в верхнюю его часть (см. рисунок, 2–4). На фоне феназепама средняя длина пути рыбы существенно не изменялась в диапазоне использованных доз по сравнению с контрольной группой животных (см. таблицу). 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 0,1, 0,5 и 1 мг/л соответственно  $297,0 \pm 37,6$ ,  $207,6 \pm 52,2$  и  $142,8 \pm 44,1$ , проявляя неизменно дозозависимый эффект (см. таблицу).

Поведение *Danio rerio* после введения феназепама и предъявления хищника,  $M \pm m$

Группа	Число фризингов, $n$	Время фризинга, с	Длина траектории, см	Время в нижней части аквариума, с	Число перемещений в верхнюю часть аквариума, $n$
Контроль ( $H_2O$ )	$52,4 \pm 8,1$	$36,5 \pm 4,5$	$1205 \pm 91$	$351,0 \pm 36,4$	$1,2 \pm 0,8$
Феназепам 0,1 мг/л	$52,4 \pm 8,1$	$34,6 \pm 3,9$	$1315 \pm 88$	$297,0 \pm 37,6$	$3,1 \pm 1,1$
Феназепам 0,5 мг/л	$36,3 \pm 7,5^*$	$23,7 \pm 6,2^*$	$1256 \pm 106$	$207,6 \pm 52,2^*$	$18,6 \pm 4,3^*$
Феназепам 1 мг/л	$29,7 \pm 5,2^*$	$17,3 \pm 4,6^*$	$1422 \pm 91^\#$	$142,8 \pm 44,1^{*\#}$	$57,0 \pm 9,2^{***\#}$
Хищник	$89,4 \pm 9,6^*$	$46,5 \pm 4,8$	$931 \pm 49^*$	$355,6 \pm 11,3$	$3 \pm 0,3$
Феназепам 1 мг/л + хищник	$64,2 \pm 14,3^\#$	$31 \pm 7,2$	$1120 \pm 36$	$232,8 \pm 27,1^{*\#}$	$30,2 \pm 1,6^{***\#}$

\*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$  — относительно группы контроля ( $H_2O$ ) в просмотровом аквариуме; #  $p \leq 0,05$ ; ##  $p \leq 0,01$  — относительно показателей после предъявления хищника в просмотровом аквариуме.

Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума за опыт достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных ( $p < 0,01$ ) и составляло при введении 0,1, 0,5 и 1 мг/л соответственно  $3,1 \pm 1,1$ ,  $18,6 \pm 4,3$  и  $57,0 \pm 11,2$ .

Для исследования эффектов предъявления хищника у *Danio rerio* использовали наиболее эффективную дозу феназепама 1 мг/л, выявленную в предварительных экспериментах по фармакологическому анализу действия анксиолитика. После предъявления хищника животные полностью перемещались в нижнюю часть просмотрового аквариума (см. рисунок, 5). При этом число паттернов «фризинг» достоверно увеличивалось ( $p < 0,05$ ) с  $52,4 \pm 8,1$  до  $89,4 \pm 9,6$ , а длина траектории движения при этом снижалась ( $p < 0,05$ ) с  $1205 \pm 91$  до  $931 \pm 49$  см по сравнению с контрольной группой ( $H_2O$ ). На фоне феназепама 1 мг/л число паттернов «фризинг» достоверно снижалось ( $p < 0,05$ ) с  $89,4 \pm 9,6$  до  $64,2 \pm 14,3$ , а длина траектории проявляла тенденцию к увеличению (с  $931 \pm 49$  до  $1120 \pm 36$  см) по сравнению с животными после предъявления хищника без введения транквилизатора (см. рисунок, 6). На фоне феназепама 1 мг/л также снижалось время в нижней части аквариума ( $p < 0,05$ ) с  $355,6 \pm 11,3$  до  $232,8 \pm 27$  с и увеличивалось число перемещений в верхнюю часть аквариума ( $p < 0,05$ ) с  $3 \pm 0,3$  до  $30,2 \pm 1,6$  по сравнению с животными после предъявления хищника без введения транквилизатора.

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования, проведенные нами ранее, показали, что тест стресса новизны является весьма чувствительным для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio*. Показано также, что феназепам дозозависимо снижает по сравнению с контрольной группой рыб число и время фризинга, увеличивает число перемещений в верхнюю половину аквариума и время плавания в последней [2, 3]. Настоящие исследования подтвердили данные, что реакция на новизну помещения в просмотровый аквариум у *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 (см. рисунок). При этом часто наблюдался фризинг, число и время которого за опыт было достаточно велико, как и время пребывания рыбы в нижней части аквариума. Полученные результаты во многом согласуются с данными литературы [19, 20].

Настоящие исследования подтвердили полученные нами данные, что реакция на новизну помещения в просмотровый аквариум у *Danio rerio* имеет типичную картину паттернов поведения на фоне введения феназепама. При этом рыбы плавали после введения анксиолитика

не только в нижней части просмотрового аквариума, но стали больше подниматься вверх (см. рисунок). Длина траектории рыбы после введения феназепама существенно не увеличивалась по сравнению с контрольной группой животных. Число и время паттерна «фризинг» после введения феназепама достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных и также проявляли дозозависимый эффект. Время пребывания рыбы в нижней части аквариума после введения феназепама значительно снижалось, особенно при использовании в дозе 0,5 и 1 мг/л (см. таблицу). Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума после введения феназепама достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных, особенно при использовании в дозе 1 мг/л. Полученные результаты во многом согласуются с данными литературы. В частности, отмечается, что тестирование анксиолитиков применяется в ряде лабораторий для исследования противотревожного эффекта у *Danio rerio*, и рыбы показывают, как правило, типичную картину поведенческих паттернов [6].

Предъявление хищника вызывало у *Danio rerio* увеличение числа фризингов (временного обездвиживания) и снижение длины траектории движения по сравнению с контрольной группой животных. Феназапам в дозе 1 мг/л снимал эффекты от предъявления хищника, проявляя при этом типичное для него действие: число перемещений в верхнюю часть аквариума за опыт существенно увеличивалось до 30; в 2 раза снижалось время в нижней части аквариума (см. таблицу). Полученные результаты во многом согласуются с данными литературы. В частности, отмечается, что предъявление хищника вызывало у *Danio rerio* увеличение видоспецифических реакций на хищника, который встречается у данного вида в естественной природе, индийскую листовую рыбу (*Nandus nandus*), вызывая повышение частоты и числа прыжков, а также вибрирующие движения [5]. В наших исследованиях анализировали поведение *Danio rerio* не в ответ на хищника, а после его предъявления, в другом аквариуме. Поэтому мы не наблюдали увеличения числа прыжков, и рыбы проявляли повышенную тревожность в просмотровом аквариуме, выражающуюся в снижении локомоций и увеличении числа фризингов. Полученные данные говорят в пользу суммации анксиогенного эффекта новизны просмотрового аквариума (см. таблицу и рисунок, 1) и эффекта от предъявления хищника (см. таблицу и рисунок, 5) в виде еще большего увеличения числа фризингов и снижения локомоций. Это согласуется с данными литературы. При исследовании действия анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере диазепама показано, что он снижал уровень кортизола и тревожно-фобические реакции после действия хищника [15]. Данные о действии феназепама, отечественного препарата, на эффекты предъявления хищника в доступной литературе не отмечены.

Возникает вопрос, сходны ли механизмы, лежащие в основе наблюдаемых реакций страха у *Danio rerio*, с механизмами других позвоночных, включая человека. Вопрос, может ли наша модель с хищником отражать эффекты анксиолитических, анксиогенных и/или изменяющих страх веществ, также трудно решить на данном этапе, так как проведено еще мало исследований подобного рода. При использовании фармакологического подхода в работе с *Danio rerio* встают такие проблемы, как оптимизация способов доставки, адсорбции, распределения, метаболизма и секреции лекарственного средства. Становится понятным, что представленная модель с хищником не является в полной мере «моделью» какого-либо человеческого расстройства. Тем не менее результаты показывают, что рыбки *Danio rerio* — перспективный инструмент, с помощью которого можно изучать механизмы реакции страха у позвоночных. Таким образом, мы рассматриваем полученные результаты с хищником как только первые шаги в нужном направлении,

к исследованию и моделированию повышенной тревожности и страха у человека.

## ВЫВОДЫ

1. Предъявление хищника *Hypsophrys nicaraguensis* вызывает у *Danio rerio* увеличение числа паттернов «фризинг» (временного обездвиживания) и снижение длины траектории движения в просмотрном аквариуме для оценки новизны.

2. Феназепам в дозе 1 мг/л снимает эффекты от предъявления хищника *Hypsophrys nicaraguensis* у *Danio rerio*, проявляя при этом типичное для него действие: число перемещений в верхнюю часть аквариума за опыт существенно увеличивается и снижается время в нижней части просмотрного аквариума для оценки новизны.

3. Тест стресса новизны и тест с хищником обладают высокой чувствительностью для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio*.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Девяшин А.С., Блаженко А.А., Лебедев В.А., и др. Оценка дозозависимых эффектов анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере диазепама у *Danio rerio* // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2020. Т. 18, № 1. С. 43–49. DOI: 10.17816/RCF18143-49
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. DOI: 10.29296/2618723X-2018-01-02
3. 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. DOI: 10.17816/RCF15357-63
4. Barcellos L.J.G., Koakoski G., Da Rosa J.G.S., et al. Chemical communication of predation risk in zebrafish does not depend on cortisol increase // Sci Rep. 2014. Vol. 4. P. 5076. DOI: 10.1038/srep05076
5. Bass S.L.S., Gerlai R. Zebrafish (*Danio rerio*) responds differentially to stimulus fish: The effects of sympatric and allopatric predators and harmless fish // Behav Brain Res. 2008. Vol. 186, No. 1. P. 107–117. DOI: 10.1016/j.bbr.2007.07.037
6. Bencan Z., Sledge D., Levin E.D. Buspirone, chlordiazepoxide and diazepam effects in a Zebrafish model of anxiety // Pharmacol Biochem Behav. 2009. Vol. 94, No. 1. P. 75–80. DOI: 10.1016/j.pbb.2009.07.009
7. Blaser R., Gerlai R. Behavioral phenotyping in zebrafish: Comparison of three behavioral quantification methods // Behav Res Methods. 2006. Vol. 38, No. 3. P. 456–469. DOI: 10.3758/bf03192800
8. Breaud S. A choice behavior for morphine reveals experience-dependent drug preference and underlying neural substrates in developing larval zebrafish // Neuroscience. 2007. Vol. 146, No. 3. P. 1109–1116. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2006.12.073
9. O'Connor C.M., Reddon A.R., Odetunde A., et al. Social cichlid fish change behavior in response to a visual predator stimulus, but not the odour of damaged conspecifics // Behav Processes. 2015. Vol. 121. P. 21–29. DOI: 10.1016/j.beproc.2015.10.002
10. Egan, R.J., Bergner C.L., Hart P.C., et al. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish // Behav Brain Res. 2009. Vol. 205, No. 1. P. 38–44. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.06.022
11. Gerlai R. Event recording and video-tracking: towards the development of high-throughput *Danio rerio* screens. In: Noldus L.P.J.J., Grieco F., Loijens L.W.S., Zimmerman P.H., eds. Measuring Behavior 2005. Proceeding of the 5<sup>th</sup> International Conference on Methods and Techniques in Behavioral Research. Wageningen, The Netherlands, 30 August–2 September, 2005. Wageningen: Noldus Information Technology; 2005.
12. 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. Vol. 85, No. 4. 752–761. DOI: 10.1016/j.pbb.2006.11.010
13. Kalluef A.V., Stewart A.M., Gerlai R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders // Trends Pharmacol Sci. 2014. Vol. 35, No. 2. P. 63–75 DOI: 10.1016/j.tips.2013.12.002
14. Levin E.D., Chen E. Nicotinic involvement in memory function in zebrafish // Neurotoxicol Teratol. 2004. Vol. 26, No. 6. P. 731–735. DOI: 10.1016/j.ntt.2004.06.010
15. Lopez-Luna J., Al-Jubouri Q., Al-Nuaimy W., Sneddon L.U. Impact of stress, fear and anxiety on the nociceptive responses

of larval zebrafish // *PLoS One*. 2017. Vol. 12, No. 8. P. e0181010. DOI: 10.1371/journal.pone.0181010

16. Lopez-Patino M.A., Cabral H., Zhdanova I.V. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish // *Physiol Behav*. 2008. Vol. 93, No. 1–2. P. 160–171. DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.08.013

17. Ninkovic, J., Bally-Cuif, L. The zebrafish as a model system for assessing the reinforcing properties of drugs of abuse // *Methods*. 2006. Vol. 39, No. 3. P. 262–274. DOI: 10.1016/j.ymeth.2005.12.007

## REFERENCES

1. 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 of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2020;18(1):43–49. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF18143-49

2. Lebedev VA, Lebedev AA, Bychkov YeR, Shabanov PD. Probability of using the behavioral responses of *Danio rerio* in assessment of dose-dependent effects of phenazepam. *Laboratornyye Zhivotnyye Dlya Nauchnykh Issledovaniy*. 2018;(1):12–21. (In Russ.) DOI: 10.29296/2618723X-2018-01-02

3. Shabanov PD, Lebedev VA, Lebedev AA, Bychkov YeR. 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 of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(3):57–63. DOI: 10.17816/RCF15357-63

4. Barcellos LJJ, Koakoski G, Da Rosa JGS, et al. Chemical communication of predation risk in zebrafish does not depend on cortisol increase. *Sci Rep*. 2014;4:5076. DOI: 10.1038/srep05076

5. Bass SLS, Gerlai R. Zebrafish (*Danio rerio*) responds differentially to stimulus fish: The effects of sympatric and allopatric predators and harmless fish. *Behav Brain Res*. 2008;186(1):107–117. DOI: 10.1016/j.bbr.2007.07.037

6. 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 DOI: 10.1016/j.pbb.2009.07.009

7. Blaser R, Gerlai R. Behavioral phenotyping in zebrafish: comparison of three behavioral quantification methods. *Behav Res Methods*. 2006;38(3):456–469. DOI: 10.3758/bf03192800

8. Bretau S. A choice behavior for morphine reveals experience-dependent drug preference and underlying neural substrates in developing larval zebrafish. *Neuroscience*. 2007; 146(3):1109–1116. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2006.12.073

9. O'Connor CM, Reddon AR, Odetunde A, et al. Social cichlid fish change behavior in response to a visual predator stimulus, but not the odour of damaged conspecifics. *Behav Processes*. 2015;121: 21–29 DOI: 10.1016/j.beproc.2015.10.002

18. Sackerman J. Zebrafish behavior in novel environments: effects of acute exposure to anxiolytic compounds and choice of *Danio rerio* line // *Int J Comp Psychol*. 2010. Vol. 23. No. 1. P. 43–61.

19. Stewart A., Kalueff A.V. The developing utility of zebrafish in modeling neurobehavioral disorders // *Int J Comp Psychol*. 2010. Vol. 23, No. 1. P. 104–120. DOI: 10.1016/j.pnpbb.2010.11.035

20. Wong K., Elegante M., Bartels B. Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (*Danio rerio*) // *Behav Brain Res*. 2010. Vol. 208, No. 2. P. 450–457. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.12.023

10. 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. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.06.022

11. Gerlai R. Event recording and video-tracking: towards the development of high-throughput *Danio rerio* screens. In: Noldus LPJJ, Grieco F, Loijens LWS, Zimmerman PH, eds. *Measuring Behavior 2005*. Proceeding of the 5<sup>th</sup> International Conference on Methods and Techniques in Behavioral Research. Wageningen, The Netherlands, 30 August–2 September, 2005. Wageningen: Noldus Information Technology; 2005.

12. 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. DOI: 10.1016/j.pbb.2006.11.010

13. Kallueff AV, Stewart AM, Gerlai R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends Pharmacol Sci*. 2014;35(2):63–75. DOI: 10.1016/j.tips.2013.12.002

14. Levin, E.D., Chen E. Nicotinic involvement in memory function in zebrafish. *Neurotoxicol Teratol*. 2004;26(6):731–735. DOI: 10.1016/j.ntt.2004.06.010

15. Lopez-Luna J, Al-Jubouri Q, Al-Nuaimy W, Sneddon LU. Impact of stress, fear and anxiety on the nociceptive responses of larval zebrafish. *PLoS One*. 2017;12(8): e0181010. DOI: 10.1371/journal.pone.0181010

16. Lopez-Patino MA, Cabral H, Zhdanova IV. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish. *Physiol Behav*. 2008;93(1–2): 160–171. DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.08.013

17. 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. DOI: 10.1016/j.ymeth.2005.12.007

18. Sackerman J. 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.

19. Stewart A, Kalueff AV. The developing utility of zebrafish in modeling neurobehavioral disorders. *Int J Comp Psychol*. 2010;23(1): 104–120. DOI: 10.1016/j.pnpbb.2010.11.035

20. Wong K, Elegante M, Bartels B. Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (*Danio rerio*). *Behav Brain Res*. 2010;208(2):450–457. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.12.023

## ОБ АВТОРАХ

\***Андрей Андреевич Лебедев**, д-р биол. наук, профессор;  
адрес: Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12;  
телефон: +7(812)234-54-47;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0297-0425>;  
eLibrary SPIN 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

## AUTHORS INFO

\***Andrei A. Lebedev**, Dr. Biol. Sci. (Pharmacology), Professor;  
address: 12 Acad. Pavlov str., Saint Petersburg, 197376, Russia;  
Phone: +7(812)234-54-47;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0297-0425>;  
eLibrary SPIN 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

## ОБ АВТОРАХ

**Александр Сергеевич Девяшин**, аспирант;  
eLibrary SPIN: 5799-5470; e-mail: alexsanta93@mail.ru

**Александра Александровна Блаженко**, аспирант; eLibrary  
SPIN: 8762-3604; e-mail: alexandrablazhenko@gmail.com

**Сергей Владимирович Казаков**, аспирант;  
e-mail: svkazakov@mail.ru

**Виктор Андреевич Лебедев**, канд. биол. наук;  
e-mail: vitya-lebedev-57@mail.ru

**Евгений Рудольфович Бычков**, канд. мед. наук;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8911-6805>;  
eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

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

## AUTHORS INFO

**Aleksandr S. Devyashin**, Post-graduate Fellow;  
eLibrary SPIN: 5799-5470; e-mail: alexsanta93@mail.ru

**Aleksandra A. Blazhenko**, Post-graduate Fellow; eLibrary SPIN:  
8762-3604; e-mail: alexandrablazhenko@gmail.com

**Sergei V. Kazakov**, Post-graduate Fellow;  
e-mail: svkazakov@mail.ru

**Viktor A. Lebedev**, Cand. Sci. (Med.);  
e-mail: vitya-lebedev-57@mail.ru

**Eugenii R. Bychkov**, Cand. Sci. (Med.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8911-6805>;  
eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

**Petr D. Shabanov**, Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>;  
eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru