

# ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НОВИЗНЫ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ОТВЕТЫ *Danio rerio* И ОЦЕНКА ДОЗОЗАВИСИМЫХ ЭФФЕКТОВ АНКСИОЛИТИКОВ БЕНЗОДИАЗЕПИНОВОГО РЯДА НА ПРИМЕРЕ ФЕНАЗЕПАМА

УДК 616-092.9+612.82  
DOI: 10.17816/RCF15357-63

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

ФГБН «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: 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

Поступила в редакцию 03.08.2017

Принята к печати 14.09.2017

## Ключевые слова:

*Danio rerio*; стресс новизны; феназепам; тревожность; анксиолитики.

## Резюме

**Цель:** исследовать действие анксиолитиков бензодиазепинового ряда у *Danio rerio* на примере феназепама. Ранее у *Danio rerio* было показано действие других анксиолитиков, диазепама и хлордиазепоксида, но не феназепама.

**Методы.** Использовали тест стресса новизны: рыбу помещали сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или водой), а затем — в просмотровый аквариум на 6 минут, где автоматически регистрировали траекторию движения, длину пути, число перемещений в верхнюю часть аквариума, время пребывания в нижней части аквариума, число и время паттерна «фризинг» за каждую минуту опыта. **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 феназепама рыбы находились уже не только в ниж-

ней, но и в верхней части просмотрового аквариума. Средняя длина пути существенно не изменялась в диапазоне использованных доз (0,1–1 мг/л). 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. При анализе динамики параметров за каждую минуту показано, что время пребывания рыбы в нижней части аквариума снижалось начиная с 3-й минуты опыта при использовании феназепама в дозе 0,5 мг/л. При этом число перемещений рыбы в верхнюю часть аквариума достоверно увеличивалось более чем в 2 раза начиная с 3-й минуты опыта при использовании феназепама в дозе 1 мг/л. **Заключение.** Сделан вывод о высокой чувствительности теста стресса новизны для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio*. Перспектива использования *Danio rerio* в качестве животных моделей в поведенческой фармакологии существенна и не уступает (а даже по ряду позиций превосходит) исследованиям на грызунах.

## 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

© P.D. Shabanov, V.A. Lebedev, A.A. Lebedev, E.R. Bychkov

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: 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. doi: 10.17816/RCF15357-63

Received: 03.08.2017

Accepted: 14.09.2017

◆ **Keywords:** *Danio rerio*; novelty stress; phenazepam, anxiety; anxiolytics.

◆ **Abstract.** The effect of benzodiazepine anxiolytic phenazepam in *Danio rerio* was investigated. Previously, *Danio rerio* showed the effects of other anxiolytics, diazep-

am and chlordiazepoxide. The analysis of the anxiolytic effect of phenazepam in *Danio rerio* was carried out for the first time. **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" for each min 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 phenazepam exposure (administration), the fish was 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 the doses used. The number and time of the freezing, as well as the time spent in the lower part of the novel tank, 2-fold decreased 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. When analyzing the dynamics of the parameters for each min, it was shown that the time of the fish in the lower part of the novel tank decreased from 3th min of the experiment with the use of phenazepam in a dose of 0.5 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 3th min of the experiment with the use of phenazepam in a dose of 1 mg/l. **Conclusion.** The described method to study behavioral responses of *Danio rerio* on novelty stress is high sensitive in comparison with traditional behavioral methods of studying tranquilizers. The prospect of using *Danio rerio* as animal model in behavioral pharmacology is significant and does not concede research on rodents.

Исследования поведения *Danio rerio* (zebrafish) применяются главным образом в нейробиологии [15, 22], нейроэтологии [4, 16, 17] и нейрофармакологии [6, 14, 19]. 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 [25]. Тест стресса новизны используется для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio*. При этом животные демонстрируют стабильные поведенческие ответы под действием стресса новизны [3, 6, 17]. Данный поведенческий тест основывается на инстинкте поиска защиты от незнакомой обстановки погружением на дно, фризингом (обездвиживанием или «приморзанием») 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 [20, 22, 28]. Подобное поведение традиционно анализируется в тесте «открытое поле» в исследованиях тревожности у грызунов [1, 2, 8, 10, 27]. А.В. Калуев и др. [9] применили показатели тревожности и адаптировали их непосредственно для *Danio rerio*. Рыбка 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. В частности, было исследовано поведение *Danio rerio* после применения анксиолитиков и анксиогенов [26, 28], что коррелировало с уровнем кортизола в крови [12]. Поведенческие эффекты у *Danio rerio* показаны также после применения этанола [13], никотина [17], морфина [7], фенамина [23], бензодиазепинов [3] и кокаина [19]. Влияние стресса новизны у *Danio rerio* можно тестировать и в ряде дополнительных тестов, таких как свет-темнота [21, 23], Т-образный лабиринт [24], «открытое поле» [18]. Таким образом, можно более

подробно проанализировать поведение животных. Кроме того, существует ряд тестов и для неполовозрелых животных [4, 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, 12, 13].

Целью настоящей работы было проведение фармакологического анализа действия анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере феназепама у *Danio rerio*. В исследованиях уровня тревожности и влияния стресса новизны на поведенческие ответы у *Danio rerio* ранее показано действие диазепама и хлордiazепоксида [3, 10], наиболее известных транквилизаторов, которые применяются в клинике во многих странах. В то же время отечественный препарат феназепам, обладающий более мощным анксиолитическим действием, ранее не был исследован у *Danio rerio*. В связи с вышесказанным в рамках настоящего исследования проводился анализ действия анксиолитика феназепама у *Danio rerio*.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Выбор животных.** В работе использованы 104 половозрелые рыбы *Danio rerio* (zebrafish) в возрасте 6–8 месяцев (молодые половозрелые животные, жизненный цикл до 5 лет) фирмы «Аква Питер» и выращенные в ФГБНУ «ИЭМ» — *Danio rerio*, дикий тип (wild type). Для тестирования использовали интактных животных после двухнедельного 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 tetra min tropical flakes.

**Тест стресса новизны.** Для экспериментов оценки новизны применяли стандартный просмотровый аквариум, который используется для изуче-

ния тревожно-фобических реакций у *Danio rerio* [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 [12, 16], аквариум был разделен чертой на две равные части — верхнюю и нижнюю. Рыбка помещалась сначала в мерный стакан водоизмещением 200 мл с растворенным фармакологическим веществом (или водой) на 5 минут, затем в предстартовый аквариум с водой ( $10 \times 10 \times 10 \text{ см}^3$ ) на 5 минут и далее в просмотровый аквариум на 6 минут, где регистрировали двигательную активность за опыт (длина трека рыбки), число переходов в верхнюю и нижнюю половины аквариума и время нахождения в них последовательно за каждую минуту опыта. 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 Noldus EthoVision 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 (рис. 1).

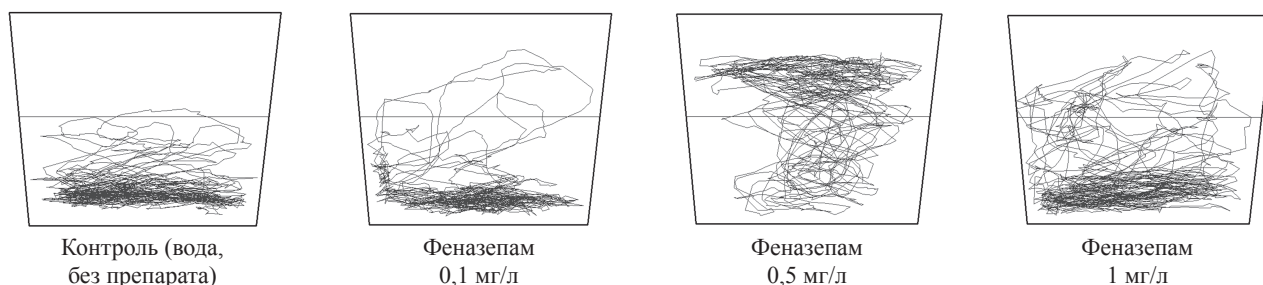


Рис. 1. Траектории движения *Danio rerio* на фоне действия феназепам

■ Таблица 1. Действие феназепам на поведенческие ответы стресса новизны у *Danio rerio*

Группа	Число «фризингов», $n$	Суммарное время паттерна «фризинг», с	Длина траектории движения, см	Время в нижней части аквариума, с	Число перемещений в верхнюю часть аквариума, $n$
Вода (контроль)	$68,2 \pm 5,7$	$36,5 \pm 4,5$	$1205 \pm 91,8$	$351,0 \pm 36,4$	$1,2 \pm 0,8$
Феназепам 0,1 мг/л	$52,4 \pm 8,1$	$34,6 \pm 3,9$	$1315 \pm 88,1$	$297,0 \pm 37,6$	$3,1 \pm 1,1$
Феназепам 0,5 мг/л	$36,3 \pm 7,5^*$	$23,7 \pm 6,2^*$	$1256 \pm 106,2$	$207,6 \pm 52,2^*$	$18,6 \pm 4,3^*$
Феназепам 1 мг/л	$29,7 \pm 5,2^*$	$17,3 \pm 4,6^*$	$1422 \pm 91,1$	$142,8 \pm 44,1^*$	$57,0 \pm 9,2^{**}$

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

**Фармакологические вещества.** Для фармакологического анализа использовали субстанцию феназепам ОАО «Новосибхимфарм» (Россия). 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.

**Статистическая обработка полученных материалов.** 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 «среднее арифметическое  $\pm$  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. рис. 1). Средняя длина пути рыбы, который автоматически регистрировался по продолжительности трека, 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 соответствен-

■ Таблица 2. Действие феназепама на динамику времени пребывания рыбы в нижней части просмотрового аквариума у *Danio rerio*

Группа	Показатели (с) за каждую минуту исследований					
	1-я минута	2-я минута	3-я минута	4-я минута	5-я минута	6-я минута
Вода (контроль)	59,1 ± 0,5	59,4 ± 0,4	57,2 ± 1,3	56,5 ± 2,6	59,3 ± 0,3	59,2 ± 0,5
Феназепам 0,1 мг/л	56,4 ± 3,2	51,5 ± 5,0	49,2 ± 3,1	52,6 ± 5,5	48,6 ± 6,3*	41,5 ± 8,4*
Феназепам 0,5 мг/л	47,7 ± 7,2*	41,4 ± 4,6*	23,5 ± 9,3**	31,3 ± 7,0**	34,8 ± 2,8**	32,4 ± 5,9**
Феназепам 1 мг/л	21,4 ± 5,5*	31,1 ± 7,1*	28,6 ± 4,6*	13,9 ± 6,5**	25,2 ± 7,1*	19,4 ± 5,3**

Примечание: \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$  относительно группы рыб с чистой водой (контроль) в просмотровом аквариуме; #  $p \leq 0,05$  относительно 1-й минуты тестирования

■ Таблица 3. Динамика числа перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума у *Danio rerio*

Группа	Число перемещений (л) за каждую минуту исследований					
	1-я минута	2-я минута	3-я минута	4-я минута	5-я минута	6-я минута
Вода (контроль)	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,08	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1
Феназепам 0,1 мг/л	0,5 ± 0,2	0,7 ± 0,5*	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,2
Феназепам 0,5 мг/л	1,4 ± 1,4*	1,8 ± 1,1*	2,0 ± 1,2*	3,8 ± 1,7**	4,7 ± 1,5**	4,3 ± 0,9**
Феназепам 1 мг/л	5,5 ± 2,0*	5,2 ± 2,1*	11,8 ± 3,5***	12,6 ± 4,7***	13,2 ± 2,3***	10,3 ± 2,8***

Примечание: \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$  относительно группы рыб с чистой водой (контроль) в просмотровом аквариуме; #  $p \leq 0,05$  относительно 1-й минуты тестирования

но  $68,2 \pm 5,7$  и  $36,5 \pm 4,5$  с. Среднее время пребывания рыбы в нижней части аквариума составляло  $351,0 \pm 36,4$  с. Динамика времени пребывания рыбы в нижней части аквариума регистрировалась автоматически и существенно не изменялась (табл. 2). Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума за опыт составляло  $1,2 \pm 0,8$ . Динамика числа перемещений рыбы в верхнюю часть аквариума также регистрировалась автоматически и существенно не изменялась (табл. 3).

На фоне введения феназепама 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. рис. 1). На фоне феназепама средняя длина пути рыбы 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 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

неизменно дозозависимый эффект (см. табл. 1). Время пребывания рыбы в нижнем отсеке снижалось начиная с 3-й минуты опыта при использовании феназепама в дозе 0,5 мг/л по сравнению с 1-й минутой тестирования ( $p < 0,05$ ). 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  $57,0 \pm 11,2$ . Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума достоверно увеличивалось начиная с 3-й минуты опыта при использовании феназепама в дозе 1 мг/л (см. табл. 3). Время пребывания рыбы в нижней части просмотрового аквариума достоверно увеличивалось начиная с 3-й минуты опыта при использовании феназепама в дозе 0,5 мг/л по сравнению с 1-й минутой тестирования.

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Настоящие исследования показали, что реакция на новизну помещения в просмотровый аквариум у *Danio rerio* (zebrafish) имеет типичную картину, или типичные паттерны поведения. В ответ на незнакомую обстановку просмотрового аквариума рыба реагировала погружением на дно, фризингом (обездвиживанием или «примерживанием») и снижением

двигательного поведения. Как правило, рыба большую часть времени находилась в нижней части просмотрового аквариума и совершала небольшие перемещения вдоль него (см. рис. 1). При этом часто наблюдали фризинг, число и время которого за опыт было достаточно велико, 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*, и рыбы показывают, как правило, типичную картину поведенческих паттернов [3, 6, 17]. При этом рыбы плавают в нижней части аквариума и часто замирают (демонстрируя фризинг). Двигательное (и исследовательское) поведение значительно снижается по сравнению с поведением в домашнем аквариуме [26, 28]. 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 [17, 18, 24].

Настоящие исследования также показали, что реакция на новизну помещения в просмотровый аквариум у *Danio rerio* имеет типичную картину паттернов поведения, которая меняется на фоне введения феназепама. Метод регистрации поведения оказался высокочувствительным к анксиолитическому действию исследуемого вещества. При этом рыбы не только плавали в это время в нижней части просмотрового аквариума, но и стали больше подниматься вверх и к концу опыта проводить здесь значительную часть времени (см. рис. 1). Длина траектории рыбы после введения феназепама существенно не увеличивалась по сравнению с контрольной группой животных (см. табл. 1). 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 использовании в дозе 0,5 и 1 мг/л. Показатели динамики времени пребывания рыбы в нижнем отсеке также снижались начиная с 3-й минуты опыта по сравнению с контрольной группой животных, особенно при использовании феназепама в дозе 0,5 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. При этом динамика числа перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума

также менялась, показатели достоверно увеличивались начиная с 3-й минуты опыта, особенно при использовании препарата в дозе 0,5 и 1 мг/л.

Полученные результаты не противоречат литературным данным. Так, тестирование анксиолитиков в ряде лабораторий с целью изучения противотревожного эффекта у *Danio rerio* продемонстрировало достаточно типичную картину поведенческих паттернов рыб, аналогичную полученным нами результатам [3, 6, 17]. При этом паттерны поведения под действием транквилизаторов у *Danio rerio* сходны с таковыми у грызунов (крысы, мыши), наиболее частым объектом изучения транквилизаторов. В настоящей работе был проведен фармакологический анализ действия бензодиазепинового транквилизатора феназепама, которое ранее не исследовалось. В литературе описаны лишь анксиолитические эффекты диазепама [10] и хлордиазепоксида [3], наиболее известных транквилизаторов, применяющихся в клинике во многих странах, в модели *Danio rerio* как объекта исследования. Интересно отметить, что в представленных работах не указаны принципиальные различия в эффектах этих транквилизаторов, более того, отмечено, что бензодиазепиновые анксиолитики диазепам и хлордиазепоксид не уступают по выраженности противотревожного эффекта агонисту 5HT<sub>1A</sub>-рецепторов буспиرونу. Единственным отличием в действии бензодиазепиновых препаратов авторы называют пороговую анксиолитическую дозу, на которую *Danio rerio* реагируют без седативного эффекта, то есть существенного снижения двигательной активности [3]. В наших опытах выявлена не только основная квалификационная характеристика отечественного транквилизатора феназепама, заключающаяся в снятии стресса новизны без изменения двигательной активности (типичный анксиолитический эффект, зависимый от дозы), но и дополнительные характеристики, к которым относится изменение характера двигательной активности между верхней и нижней частями просмотрового аквариума за счет возрастания, можно даже сказать, гиперактивности в верхней части аквариума, где в норме рыбы, как правило, проводят чрезвычайно мало времени. При этом в нижней части аквариума двигательная активность снижалась умеренно, максимально — вдвое после введения феназепама в большой (1 мг/л) дозе, соответствующей 0,0001 % раствору препарата. Эти характеристики, 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. Тест стресса новизны является весьма чувствительным для изучения тревожно-фобических

реакций у *Danio rerio*. Перспектива использования *Danio rerio* в качестве животной модели в поведенческой фармакологии не уступает (а даже по ряду позиций превосходит) исследованиям на грызунах.

2. Фармакологический анализ анксиолитического действия феназепама у *Danio rerio* показал, 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.

## ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

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. Antagonist receptors kortikoliberina astressin snimaet trevozhno-fobicheskie sostoyaniya u krys, vyrashchennyh v social'noy izolyacii. *Review on Clinical Pharmacology and Medicinal Therapy*. 2016;14(4):24-31. (In Russ.)]. doi: 10.17816/RCF14424-31.
2. 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. Modelirovanie obsessivno-kompul'sivnogo i addiktivnogo igrovogo povedeniya u krys vvedeniem fenamina v teste zakapyvaniya sharikov. *Narkologiya*. 2017;16(1):32-38. (In Russ.)]
3. Bencan Z, Sledge D, Levin ED. Buspirone, chlordiazepoxide and diazepam effects in a *Danio rerio* model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*. 2009;94:75-80. doi: 10.1016/j.pbb.2009.07.009.
4. Best JD, Alderton WK. *Danio rerio*: an *in vivo* model for the study of neurological diseases. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2008;4:567-576.
5. Best JD. Non-associative learning in larval *Danio rerio*. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33:1206-1215. doi: 10.1038/sj.npp.1301489.
6. Blaser R, Gerlai R. Behavioral phenotyping in *Danio rerio*: comparison of three behavioral quantification methods. *Behav Res Methods*. 2006;38:456-469. doi: 10.3758/BF03192800.
7. Bretau S. A choice behavior for morphine reveals experience-dependent drug preference and underlying neural substrates in developing larval *Danio rerio*. *Neuroscience*. 2007;146:1109-1116. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.12.073.
8. Bronikowski AM. Open-field behavior of house mice selectively bred for high voluntary wheel-running. *Behav Genet*. 2001;31:309-316. doi: 10.1023/A:1012283426530.
9. Cachat J, Stewart A, Grossman L, Kalueff AV. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult *Danio rerio*. *Nature protocols*. 2010;5(11):1786-9. doi: 10.1038/nprot.
10. 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;25:235-260. doi: 10.1016/S0149-7634(01)00011-2.
11. Creton R. Automated analysis of behavior in *Danio rerio* larvae. *Behav Brain Res*. 2009;203:127-136. doi:10.1016/j.bbr.2009.04.030.
12. Egan RJ. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in *Danio rerio*. *Behav Brain Res*. 2009;205:38-44. doi: 10.1016/j.bbr.
13. Gerlai R. Event recording and video-tracking: towards the development of high-throughput *Danio rerio* screens. In: Proc. 5th Conf. on Methods in Behav. Res. Eds. J.J. Noldus, F. Grieco, L.W.S. Loijens, P.H. Zimmerman. 2005.
14. Gerlai R, Lee V, Blaser R. Effects of acute and chronic ethanol exposure on the behavior of adult *Danio rerio* (*Danio rerio*). *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;85:752-761. doi: 10.1016/j.pbb.2006.11.010.
15. Guo S. Using *Danio rerio* to assess the impact of drugs on neural development and function. *Expert Opin Drug Discov*. 2009;4:715-726. doi: 10.1517/17460440902988464.
16. Key B, Devin CA. *Danio rerio* as an experimental model: strategies for developmental and molecular neurobiology studies. *Methods Cell Sci*. 2003;25:1-6. doi: 10.1023/B:MICS.0000006849.98007.03.
17. Levin ED, Chen E. Nicotinic involvement in memory function in *Danio rerio*. *Neurotoxicol Teratol*. 2004;26:731-5. doi:10.1016/j.ntt.2004.06.010.
18. Levin ED, Bencan Z, Cerutti DT. Anxiolytic effects of nicotine in *Danio rerio*. *Physiol Behav*. 2007;90:54-58. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.08.026.
19. Lopez-Patino MA, Cabral H, Zhdanova IV. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in *Danio rerio*. *Physiol Behav*. 2008;93:160-171. doi: 10.1016/j.physbeh.2007.08.013.
20. Maximino C, Marques BT, Dias CA, et al. Parametric analyses of anxiety in *Danio rerio* scototaxis. *Behav Brain Res*. 2010;210:1-7. doi: 10.1016/j.bbr.2010.01.031.
21. Maximino C, Marques BT, Dias CA, et al. Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. *Nat Protoc*. 2010;5:209-216. doi: 10.1038/nprot.2009.225.
22. Miklosi A, Andrew RJ. The *Danio rerio* as a model for behavioral studies. *Danio rerio*. 2006;3:227-234. doi: 10.1089/zeb.2006.3.227.
23. Ninkovic J, Bally-Cuif L. The *Danio rerio* as a model system for assessing the reinforcing properties of drugs of abuse. *Methods*. 2006;39:262-274. doi: 10.1016/j.ymeth.2005.12.007.
24. Sackerman J. *Danio rerio* behavior in novel environments: effects of acute exposure to anxiolytic compounds and choice of *Danio rerio* line. *Int J Comp Psychol*. 2010;23:43-61.
25. Spence R, Gerlach G, Lawrence C, Smith C. The behaviour and ecology of the *Danio rerio*. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2008;83:13-34. doi: 10.1111/j.1469-185X.2007.00030.x.
26. Stewart A. The developing utility of *Danio rerio* in modeling neurobehavioral disorders. *Int J Comp Psychol*. 2010;23:104-121. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035.

27. Streng J. Open-field behavior in four inbred mouse strains. *Can J Psychol.* 1971;25:62-68. doi: 10.1037/h0082368.
28. Wong K. Analyzing habituation responses to novelty in *Danio rerio* (*Danio rerio*). *Behav Brain Res.* 2009;208:457. doi: 10.1016/j.bbr.2009.12.023.

## ◆ Информация об авторах

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

*Виктор Андреевич Лебедев* — канд. биол. наук, инженер отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

*Андрей Андреевич Лебедев* — д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

*Евгений Рудольфович Бычков* — канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: bychkov@mail.ru.

## ◆ Information about the authors

*Petr D. Shabanov* — Dr Med Sci, Professor, Head, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine. Saint Petersburg, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

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

*Andrei A. Lebedev* — Dr Biol Sci (Pharmacology), Leading Researcher, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru.

*Eugenii R. Bychkov* — PhD (Biochemistry), Leading Researcher, S.V. Anichkov Dept. of Neuropharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: bychkov@mail.ru.