

УДК 57.024

## ЗЕБРАДАНИО КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ МОДЕЛЬ В ТРАНСЛЯЦИОННОЙ НЕЙРОБИОЛОГИИ И БИОМЕДИЦИНЕ

© 2023 г. Т. О. Колесникова<sup>а, \*</sup>, Н. П. Ильин<sup>б, с</sup>, М. М. Котова<sup>а</sup>, А. В. Калуев<sup>а, б, с</sup>

<sup>а</sup>Направление “Нейробиология”, Научный центр Генетики и Наук о жизни, Научно-технологический университет “Сириус”, пгт Сириус, Краснодарский край, 354340 Россия

<sup>б</sup>Институт экспериментальной медицины, ФГБУ “НМИЦ им. В.А. Алмазова” Минздрава России, Санкт-Петербург, 197341 Россия

<sup>с</sup>Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

\*e-mail: philimontani@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.12.2022 г.

После доработки 15.01.2023 г.

Принята к публикации 18.03.2023 г.

Широкое распространение заболеваний центральной нервной системы требует непрерывного поиска методов и средств их фармакологической коррекции. Основные подходы экспериментального моделирования данных заболеваний включают использование грызунов, недостатками которых является стоимость проводимых исследований, сложность содержания, ухода и долгий рост организма. Использование альтернативных модельных организмов, таких как рыба зебраданио (*Danio rerio*, zebrafish), в трансляционной нейробиологии и медицине позволяет проводить быстрые экспериментальные работы на фоне простоты содержания и манипуляций, а также ускоренного онтогенеза. Зебраданио также чувствительны к основным классам фармакологических препаратов, что делает данную модель незаменимой для доклинических исследований широкого спектра физиологически активных веществ. Сходство нейрхимических систем, физиологическая и генетическая гомология с человеком, возможность проведения исследований на личинках и взрослых особях, легкость генетических манипуляций, прозрачность эмбрионов и ряд других биологических особенностей открывают широкий спектр возможностей использования зебраданио для моделирования различных патологий ЦНС.

**Ключевые слова:** Зебраданио, zebrafish, *Danio rerio*, нейробиология, модельный организм, трансляционная медицина

**DOI:** 10.31857/S0301179823030037, **EDN:** OXCWКУ

### ВВЕДЕНИЕ: ЗЕБРАДАНИО КАК МОДЕЛЬ В НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

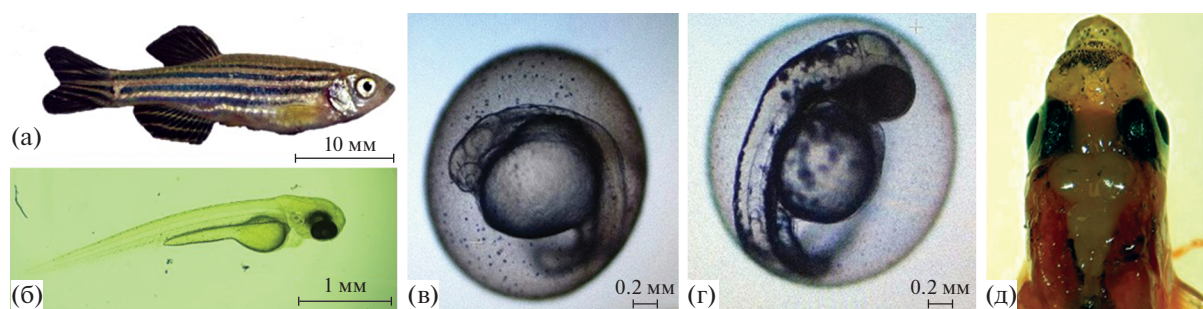
Памяти профессора  
Юрия Федотовича Пастухова (1936–2022 гг.)

#### *Нейробиология зебраданио*

Небольшие пресноводные костные рыбы, зебраданио (zebrafish, *Danio rerio*, рис. 1), были описаны Ф. Гамильтоном в 1822 г. [62]. Ареал их обитания включает северо-восточные, южные и западные районы Индии, Пакистана и Непала, а также Бангладеш и Мьянму [9, 48, 179], в основном – в небольших реках и прудах [48, 178]. В природе зебраданио питаются личинками и взрослыми насекомыми, ракообразными и водорослями [118, 177], а их естественными врагами являются хищные рыбы, птицы и личинки стре-

коз [48]. Зебраданио – стайные социальные животные с четкой иерархией [48, 49]. Сезон размножения зебраданио приурочен к сезону дождей, однако в лабораторных условиях они размножаются круглый год [19, 57]. Зебраданио демонстрируют сложные формы стереотипного брачного поведения [40, 77, 174], а самки обнаруживают высокую плодовитость и могут откладывать до нескольких сотен яиц в день [180].

Внутрипопуляционная изменчивость зебраданио хорошо выражена как у диких, так и у лабораторных популяций [24, 30, 128, 198, 207]. Зебраданио также обладают выраженным половым диморфизмом: самцы длиннее, стройнее и желтее, а самки – полнее и серебристее [21]. Механизм определения пола у зебраданио имеет полигенную природу и выражается в многочисленных сцепленных с полом локусов-кандидатов (например, в 4, 5 и 16 хромосомах) [98, 127]. Изначально



**Рис. 1.** Костная рыба зебрaдaниo (*Danio rerio*), используемая как модель в трансляционной биологии и медицине. (а) – взрослая особь зебрaдaниo, (б) – личинка зебрaдaниo на 3-й день после вылупления, (в) и (г) – стадии развития эмбрионов зебрaдaниo, д – мозг взрослой рыбы (черепная коробка вскрыта, хорошо видны обонятельные луковицы, зрительные бугры, тeлeнцeфaлoн (конечный мозг) и ствол мозга). Следует обратить внимание на прозрачность личинок и эмбрионов зебрaдaниo, что обеспечивает простоту экспериментальных манипуляций (микроинъекций) при использовании данного модельного организма.

у зебрaдaниo развиваются яичнико-подобные гонады независимо от хромосомного фона. Определение пола самца начинается с исчезновения ооцитов и разрушения полости яичника [196]. За гормональную регуляцию у рыб отвечают гены мозговой ароматазы (*cyp19a1b*), простагландин-3 $\alpha$ -синтазы (*ptges3a*) и простагландин-редуктазы 1 (*ptgr1*), которые демонстрируют половые диморфные паттерны экспрессии в ЦНС [95]. Белок-продукт гена *Cyp19* ферментативно превращает тестостерон в 17-бета-эстрадиол, и его ингибирование приводит к смене пола зебрaдaниo с мужского на женский [201]. Гены семейства *FTZ-F1* у зебрaдaниo участвуют в регуляции развития интерренальной железы, таким образом, контролируя биосинтез стероидов [201].

Помимо экспрессии генов, на определение пола самца влияют экологические и гормональные факторы [197], например, введение андрогенов маскулинизирует поведение рыб за счет активизации генов гидроксистероидной 11-бета-дегидрогеназы 2 (*hsd11b2*), дейодиназы йодтиронина типа II (*dio2*), гонадотропин-высвобождающих гормонов 2 и 3 (*gnrh2*, *gnrh3*), модулирующих синтез 11-кетотестостерона, трийодтиронина и гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) в мозге зебрaдaниo [95]. Зебрaдaниo также демонстрирует половые отличия в поведении [193] и выраженности агрессии. Так, хронический стресс повышает агрессию [156] и оборот серотонина, но снижает уровень дофамина в переднем мозге [37] у самцов, но не рыб-самок. Описаны также половые различия в ответах зебрaдaниo на введение физиологически активных нейротропных веществ [200].

Строение и физиология центральной нервной системы (ЦНС) зебрaдaниo достаточно эволюционно консервативны, и сходны с таковыми у млекопитающих [75]. Например, медиальный паллиум, активация которого наблюдается при тревожных расстройствах [158, 175], гомологичен миндалевид-

ному телу млекопитающих [114, 124, 153, 202], что подтверждается повышением экспрессии белка Fos в данной структуре после введения D-амфетамина [202]. Нейрохимические механизмы функционирования ЦНС зебрaдaниo основаны на сходстве основных нейротрансмиттеров, рецепторов и переносчиков у млекопитающих и рыб [5, 140, 184]. Помимо структурной и функциональной гомологии ЦНС с человеком, зебрaдaниo обладают чувствительностью к основным классам физиологически активных нейротропных агентов, в т.ч. психостимуляторам [133], опиатам [94], этанолу [192], галлюциногенам [129], анксиолитикам [17], антидепрессантам [183] и антипсихотикам (нейролептикам) [25].

Изменения в нейроэндокринной системе при различных патологиях мозга человека, таких как депрессия [64, 67], тревожные расстройства [63, 90], зависимость [80, 102] и болезнь Альцгеймера (БА) [16, 203], также могут быть успешно смоделированы на зебрaдaниo. В частности, активация гипоталамо-гипофизарно-интерренальной системы (ГГИ) у зебрaдaниo высвобождает стресс-гормон кортизол, который действует на рецепторы глюкокортикоидов (ГР), аналогично оси гипоталамус-гипофиз-надпочечниковая железа (ГГН) человека [4, 60, 145].

Нейроэндокринную систему зебрaдaниo возможно модулировать с помощью различных экспериментальных (в том числе фармакологических и генетических) манипуляций [28]. Например, мутация гена ГР (*grs357*) у взрослых зебрaдaниo нарушает отрицательную обратную связь и передачу сигналов кортизола путем отмены транскрипционной активности ГР при связывании кортизола [212]. Это приводит к повышению уровня кортизола в крови и вызывает характерные aberrантные поведенческие фенотипы – замирание (фризинг), снижение исследовательского поведения и нарушение габитуации. Большинство из этих эф-

фектов устраняются введением традиционного антистрессорного нейротропного препарата – селективного ингибитора обратного захвата серотонина (СИОЗС) флуоксетина, тем самым еще раз подчеркивая эволюционную консервативность нейроэндокринной физиологии зебрადанио и человека [60, 212].

Глутамат – основной возбуждающий нейротрансмиттер, участвующий в патогенезе шизофрении и посттравматического стрессового расстройства (ПТСР), сигнализация которого контролируется везикулярными переносчиками глутамата (*VGLUT1* и *VGLUT2*) [52], метаботропными (mGluRs) и ионотропными (iGluRs) рецепторами, включая каинатные, N-метил-D-аспаратные (NMDA) и  $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионатные (AMPA) рецепторы. Ген *VGLUT2* экспрессируется у эмбрионов зебрადанио начиная с 20–24 ч после оплодотворения (hpf) в нейронах Rohon Beard и в медиодорсальном домене спинного мозга [65]. По мере развития происходит увеличение областей экспрессии, а также образование локусов по всему спинному мозгу. К 4–5 дню после оплодотворения (dpf) гены *VGLUT1* и *VGLUT2* обнаруживаются в большей части среднего, заднего и спинного мозга [65]. Зебрადанио также имеют высокоаффинные переносчики возбуждающих аминокислот (excitatory amino acid transporters, EAATs), которые регулируют уровень глутамата в мозге и предотвращают его эксайтотоксичность. Четыре из пяти EAAT генов были обнаружены в геноме зебраданио, включая три паралога *EAAT1*, *EAAT2*, *EAAT3* и две последовательности *EAAT5* [163].

ГАМК является основным тормозным нейротрансмиттером в мозге, который также регулирует развитие нервной системы. Изменения в функционировании ГАМК и декарбоксилазы глутаминовой кислоты (ДГК, фермента синтеза ГАМК из глутамата) наблюдаются при многих заболеваниях мозга, включая биполярное и депрессивное расстройства [18, 23, 46]. У эмбрионов зебраданио ГАМК-реактивные клетки можно обнаружить на очень раннем этапе развития. К 16 dpf они видны в телеэнцефалоне, ядре тракта постоптической спайки, ядре медиального продольного пучка и по всему заднему и спинному мозгу [44]. Через 24 ч после оплодотворения число иммунореактивных клеток в дорсомедиальном ядре задней комиссуры и зачатке гипоталамуса увеличивается. По мере развития зебраданио, ГАМК-ергические аксональные проекции включают супраоптический тракт, тракт постоптической спайки и медиальный продольный пучок. К 3 dpf распределение ГАМК-ергических нейронов в мозге зебраданио очень схоже с таковым у млекопитающих на соответствующей стадии развития [126].

ГАМК-иммунореактивные клетки широко распространены и локализируются в обонятельной луковице, субпаллиуме, задней преоптической области, базальной пластинке промежуточного мозга, центральной оптической покрывке, вентральной мезэнцефальной покрывке, клапане мозжечка и продолговатом мозге [65, 126]. У взрослых зебраданио ГАМК локализуется во внутреннем клеточном слое обонятельной луковицы [86], во всех областях субпаллиума, а также в преоптических, претектальных, вентральных, таламических, гипоталамических, прегломерулярных и задних туберкулезных ядрах, теле мозжечка и вестибулолатеральных долях [42, 125].

Дофамин и норадреналин являются ключевыми катехоламинами мозга. Дофамин играет важную роль в регуляции процессов обучения, памяти, контроля за движениями, потребления пищи и мотивации, а его дефицит приводит к развитию биполярного расстройства, шизофрении, СДВГ и зависимости. Дофаминергическая система рыб сходна с таковой у млекопитающих [20]: у личинок зебраданио дофаминовые нейроны сначала формируются в конечном (обонятельная луковица и субпаллиум) и промежуточном мозге (преоптическая область, претектум, вентральный таламус, задний бугорок и гипоталамус) [68, 119], а у взрослых рыб изоформы гена тирозин-гидроксилазы (фермента, ответственного за образование предшественника дофамина) экспрессируются в конечном мозге, вентральном таламусе и претектуме (*th1*), гипоталамусе (*th2*), а также заднем бугорке и преоптической области (*th1* и *th2*) [210]. Некоторые различия между зебраданио и млекопитающими включают отсутствие у рыб группы дофаминергических клеток в среднем мозге [68, 78] и вентральной части среднего мозга [189], а также наличие дополнительной претектальной группы нейронов [52]. Норадренергические нейроны выполняют важную функцию в нервной системе, регулируя процессы внимания, возбуждения и вознаграждения, а также патогенез депрессии и шизофрении. Норадренергическая система достаточно похожа у зебраданио и млекопитающих, а ее нейроны локализируются в голубом пятне, продолговатом мозге и области постrema [109, 110].

Гистамин играет ключевую роль в регуляции высших когнитивных функций, циркадных ритмов, двигательной активности и работы других аминергических систем человека и животных. Гистаминергическая система зебраданио сходна с другими позвоночными, и включает L-гистидин-декарбоксилазу и три рецептора гистамина (H1, H2 и H3) [146]. Первые гистаминергические нейроны зебраданио выявляются в вентральном гипоталамусе примерно через 85 hpf, а через 90 hpf – в дорсальном конечном мозге [50]. У взрослых зебраданио гистамин-позитивные нейроны обнару-

живаются в вентрокаудальной области гипоталамуса, окружающей задний карман [187] и иннервируют все основные области мозга кроме мозжечка [78].

Серотонин (5-НТ) опосредует возбуждающую и тормозную нейротрансмиссию, играя важную роль в эмоциях, обучении, памяти, настроении и сне организма. Нарушение уровня серотонина во время развития ЦНС связано с тревожными расстройствами, шизофренией и депрессией [106]. У зебраданио обнаружено четыре гена серотониновых рецепторов (*htr1aa*, *htr1ab*, *htr1bd* и *htr2c*) [135, 168]. Серотониновые нейроны обнаруживаются в спинном мозге эмбрионов зебраданио к 1 dpf, а дополнительные кластеры распределяются по всему мозгу (включая конечный и задний мозг) на 5 dpf [45, 119]. У взрослых особей эти нейроны в основном расположены в ядре шва с проекцией нейронов в конечном, промежуточном мозге, покрышке, заднем мозге и спинном мозге [99]. Дополнительные группы анатомически различных скоплений серотонин-реактивных клеток также обнаруживаются в шишковидной железе, претектальной области, заднем бугорке и гипоталамусе, ретикулярной формации, постремальной области и спинном мозге [78, 99, 164].

Ацетилхолин играет ведущую роль в процессах сна, обучения/памяти и внимания, а также при ряде патологий (шизофрении, БА, СДВГ и депрессии). Холинергическая система зебраданио в целом сходна с таковой у других позвоночных и имеет как классические мускариновые [70], так и полный набор никотиновых рецепторов [87, 141]. Распределение холинергических нейронов в головном мозге зебраданио описано путем картирования холинацетилтрансферазы (ХАТ) и ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Холинергические имунореактивные нейроны впервые появляются сразу после вылупления в тектуме зрительного нерва эмбрионов зебраданио. Через 60 ч после оплодотворения в преоптической области и покрышке видны дополнительные клетки, а к завершению эмбриональной стадии дополнительная реактивность наблюдается в истмической области и продолговатом мозге [8]. У взрослых зебраданио широко распространены как ХАТ, так и АХЭ. АХЭ-реактивные нейроны обнаруживаются в преоптической области, перивентрикулярном слое зрительной покрышки, ростральных покрышечных, глазодвигательных, блоковых ядрах мезэнцефальной покрышки, истмической области и двигательных ядрах черепно-мозговых нервов [29]. Напротив, ХАТ-реактивные нейроны располагаются в претектуме и тектуме, за исключением маргинального слоя, мезэнцефальной покрышки, истмической области, в клетках Пуркиньи и гранулярных клетках мозжечка и по всему продолговатому мозгу.

Оксид азота (NO) образуется эндогенной NO-синтазой (NOS) и участвует во многих нормальных и патофизиологических процессах [35, 123]. NO представляет собой свободный радикал, который образуется из L-аргинина в тканях при действии трех основных изоформ NOS, включая нейрональную NOS (nNOS), эндотелиальную NOS (eNOS) и индуцируемую NOS (iNOS), с использованием никотинамид адениндинуклеотидфосфата (НАДФ) в качестве ко-фактора [2]. У костных рыб NO участвует в развитии ЦНС на эмбриональной и постэмбриональной стадиях жизни [54]. Клеточные популяции, экспрессирующие мРНК nNOS, тесно связаны с зонами пролиферации, генерирующие новые клетки на протяжении всей жизни, включающие вентрикулярные области конечного, промежуточного и среднего мозга [66]. Экспрессия NOS у эмбрионов зебраданио обнаружена через 16 ч после оплодотворения в гипоталамусе и присутствует в отдельных областях ЦНС уже через 3 дня после оплодотворения [151]. Поскольку исследований функциональной роли NO на зебраданио немного, необходимо дальнейшее изучение для оценки изменений в этой сигнальной системе, вызванных физиологически активными и токсическими агентами.

Наконец, следует отметить частичное удвоение генома костных рыб, которое произошло около 450 млн лет назад [154], и привело к экспрессии большего количества рецепторов нейротрансмиттеров, чем у других видов. Например, у зебраданио имеется примерно 122 рецепторов, связанных с G-белком, для биогенных аминов (серотонин, норадреналин, дофамин, гистамин, адреналин и следовые амины) по сравнению с 57 рецепторами у мышей и 44 рецепторами у человека [53]. При этом многие физиологические свойства рецепторов зебраданио еще недостаточно изучены на данный момент [139]. При этом, однако, хорошо охарактеризованы альфа-2-адренорецепторы (*adra2*) рыб. Геном зебраданио содержит пять рецепторов *adra2*, три из которых (*adra2a*, *adra2b* и *adra2c*) аналогичны млекопитающим [166], а два других (*adra2da* и *adra2d*) специфичны для зебраданио. Несмотря на довольно низкую гомологию нуклеотидных последовательностей (около 55% в целом, но ~75% в трансмембранных доменах) генов, адренорецепторы человека и зебраданио демонстрируют сходные профили связывания физиологически активных лигандов [166].

#### *Генетические особенности зебраданио*

Зебраданио произошли от общего предка костных рыб примерно 340 млн лет назад [6], претерпев дополнительный цикл дубликации генома [120]. В частности, для 71% гомологичных человеческих генов у зебраданио имеется по крайней мере один ортолог, а 47% генов человека имеют

однозначный ортолог в геноме зебраданио [6]. Из генов, для которых у зебраданио есть более одного ортолога, изучены и функционально охарактеризованы лишь некоторые, и поэтому непонимание многих ортологов человеческих генов у зебраданио является потенциальной проблемой, возникающей при использовании данной модели в трансляционной нейробиологии. Например, у человека есть три гена *Period (Per)*: *Per1*, *Per2* и *Per3* [204], кодирующие регуляторные элементы циркадных часов, которые также отвечают за рост, переход в состояние покоя и выработку ряда гормонов [38, 136, 199]. У зебраданио присутствуют два гена *per1 (per1a и per1b)*, но только один *per2* и один *per3* [204]. Гены *per1a* и *per1b* демонстрируют различия во временной и пространственной экспрессии, однако их роль в регуляции циркадных ритмов остается мало изученной. У зебраданио также дуплицированы гены серотонинового транспортера (*sert*) *serta* и *sertb*, похожие между собой физиологически и обладающие высокой гомологией с геном этого транспортера у млекопитающих [206]. Таким образом, несмотря на дополнительную дубликацию генома, зебраданио как модельный объект в целом пригодны для использования в нейробиологических и физиологических исследованиях, что дает возможность поиска ключевых эволюционно-консервативных механизмов патогенеза болезней мозга, а также молекулярных взаимодействий физиологически активных веществ, в том числе новых лекарств и их потенциальных мишеней.

#### МОДЕЛИРОВАНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦНС НА ЗЕБРАДАНИО

Важное преимущество водных лабораторных животных для моделирования патологий ЦНС — это очевидная практическая простота экспериментальных (в том числе генетических, физиологических и фармакологических) манипуляций. Кроме того, поведенческие фенотипы, генетические факторы риска и чувствительность зебраданио к физиологически активным соединениям часто демонстрируют высокую степень сходства у рыб с грызунами и человеком.

Стресс является частым фактором риска развития аффективных заболеваний, включая депрессию [104, 186] и тревожные расстройства [26]. У млекопитающих, реакция на стресс опосредуется гипоталамусом, гипофизом и надпочечниками, которые вместе образуют ось ГГН [176]. Продолжительный стресс и гиперактивация оси ГГН могут снизить экспрессию ГР, в конечном итоге снижая способность адаптироваться и справляться со стрессом [69], в том числе вызывая депрессию [211]. Тревожные расстройства являются серьезными психическими заболеваниями, распространенность которых (~30%) превышает любое дру-

гое расстройство мозга [82, 83]. Существует несколько типов тревожных расстройств, включая паническое, ПТСР, генерализованное тревожное расстройство и специфические фобии [10]. Отличительным признаком тревожных расстройств является непреодолимое и преувеличенное чувство беспокойства в ответ на предполагаемые угрозы [10], резко снижающее качество жизни пациентов и производительность труда. Первичным лечением тревожных расстройств обычно является прием СИОЗС или когнитивно-поведенческая терапия [26], а резистентным пациентам назначают селективные ингибиторы обратного захвата норадреналина (СИОЗСН) или трициклические антидепрессанты [26]. В то же время, терапия тревожных расстройств зачастую неэффективна, и требует новых подходов и препаратов, лишенных ограничений по эффективности и переносимости пациентами [59].

Поскольку эта задача требует идентификации биохимических и генетических мишеней действия и этиологии тревожных расстройств [26, 59, 72], необходимо также наличие эффективных тестов и моделей данных заболеваний на животных. Например, зебраданио хорошо подходит для высокопроизводительного скрининга анксиолитических физиологически активных препаратов [108], в том числе на личинках, которые вылупляются к 3 dpf и демонстрируют широкий спектр поведенческих фенотипов к 5 dpf [160]. В частности, пребывание на периферии арены (тигмотаксис) отражает тревожное поведение и усиливается после воздействия анксиогенных стимулов или препаратов [181]. У взрослых рыб параметры, отражающие уровень тревожности, включают латентное время выхода в верхнюю часть аквариума или увеличение времени нахождения на дне в тесте нового аквариума (рис. 2) [181]. Наоборот, при действии анксиолитических препаратов или манипуляций (например, выращивание в обогащенной среде) зебраданио активнее исследовать потенциально более опасную верхнюю зону теста, чем контрольные рыбы [181].

В тесте черно-белой камеры, рыба исследует ярко освещенную светлую и темную части арены, обычно проводя больше времени в темноте (скототаксис, рис. 2). Такой фенотип свидетельствует о тревожно-подобной реакции, на которую можно двунаправленно влиять нейротропными (в первую очередь — анксиолитическими или анксиогенными) препаратами [74]. Например, при действии анксиолитических препаратов зебраданио будут охотнее исследовать потенциально более опасный светлый отсек, чем контроль. В тесте построения косяка (рис. 2) оценивается стабильность (shoaling) зебраданио по степени скученности группы (обычно из 5–8 рыб) по среднему расстоянию между членами группы, а также по размеру формируемого косяка. Для оценки таких



**Рис. 2.** Основные тесты, используемые для оценки поведения и активности взрослых рыб зебрэданио. Тесты на тревожность включают тест нового аквариума, тест построения косяка и тест черно-белой камеры. Для исследования памяти рыб используются У-образный и Т-образный лабиринты. Аналогичные, но меньшие по размерам, тесты могут применяться для тестирования личинок зебрэданио.

показателей активно используются компьютерные программы, позволяющие отслеживать одновременно все особи косяка в рамках одного теста. При действии анксиолитиков стайность рыб обычно нарушается, а анксиогенные препараты или воздействия вызывают более плотный, компактный косяк. Наконец, также имеются интересные генетические модели тревожности у зебрэданио, в том числе нокдаун гена везикулярного транспортера моноаминов 2 (*VMAT2*), который вызывает тревогу со сниженной исследовательской активностью [205].

Модели депрессии широко изучались на грызунах с использованием стрессоров [56, 173], физиологически активных нейротропных препаратов [14], селекции и геной инженерии [43]. Некоторые характерные симптомы депрессии (например, низкую самооценку и подавленное настроение) трудно оценить у животных, поскольку они не проявляют чувства собственного достоинства [43]. Напротив, другие фенотипы, включая ангедонию, коморбидную тревожность, нарушения сна и нейроэндокринные патологии, можно легко смоделировать на животных [152, 172]. Депрессивные состояния у зебрэданио могут быть вызваны действием непредсказуемых хронических мягких стрессоров (ХНМС), применяемых в течение 1–8 нед. [55, 113, 149]. Например, взрослые зебрэданио, подвергшиеся воздействию ХНМС в течение 7–14 дней, демонстрируют снижение общей локомоции, изменение социального поведения и обычной окраски тела [58]. Выращенные в условиях социальной изоляции зебрэданио в моделях хронического стресса демонстрируют повышение уровня тревоги в тесте нового аквариума и снижение массы тела и уровня дофамина в мозге, по сравнению с рыбами, выращенными в группах [55]. Эффекты ХНМС на исследовательское и груп-

повое поведение нивелируются СИОЗС флуоксетином и бензодиазепином бромазепамом [113]. Другой физиологически активный нейротропный препарат, резерпин, снижает дофаминергическую передачу и вызывает у зебрэданио депрессивные реакции, в том числе нарушение социального поведения, гипоактивность и повышенный уровень кортизола, которые согласуются с клиническими симптомами депрессии [132]. Также существуют генетические модели депрессии на зебрэданио, включающие зебрэданио-мутантов по гену ГР (*gr/s357*) [60].

Наконец, отмеченное ранее сходство систем нейротрансмиттеров у рыб и млекопитающих подтверждается и тем, что зебрэданио демонстрируют высокую чувствительность к различным классам физиологически активных нейротропных препаратов [139, 140], что подчеркивает применимость данного организма для поиска новых терапевтических подходов и доклинического скрининга химических соединений. Например, эффекты пентилентетразола (коразола, ПТЗ) — одного из классических просудорожных ГАМК-литических средств у человека, грызунов и зебрэданио, подавляется широким спектром противоэпилептических препаратов [36]. ПТЗ-индуцированные судороги также являются эффективным способом скрининга новых противоэпилептических препаратов [15, 36]. ПТЗ также увеличивает экспрессию гена *c-fos* в мозге зебрэданио, которая ослабляется классическими противосудорожными средствами [15]. Помимо ПТЗ, также используют для моделирования судорог на зебрэданио и другие препараты [209], в том числе каиновую кислоту (КК) [3]. Антагонисты глутаматных рецепторов уменьшают судороги, вызванные КК у рыб, что подчеркивает ценность зебрэданио для изучения глутаматергической возбуждающей нейротранс-

миссии. Сочетание генетических манипуляций с действием физиологически активных нейротропных препаратов широко применяется для моделирования эпилепсии у рыб [36]. Например, клемизол (антагонист гистаминовых рецепторов) эффективен при лечении припадков в генетических моделях эпилепсии у зебраданио (мутация гена *scn11ab*) [61] и модели синдрома Драве [12].

Нейролептики первого поколения (типичные нейролептики) являются препаратами с высоким сродством к рецепторам дофамина D2. Хотя они наиболее эффективны для лечения психозов [97], данные препараты имеют серьезные побочные эффекты — тремор, паранойю и тревогу [122]. “Атипичные” нейролептики второго поколения демонстрируют более низкое сродство к D2 рецепторам и меньшее количество побочных эффектов [76]. Тем не менее, по-прежнему существует потребность в идентификации новых методов и препаратов для лечения психозов, и зебраданио могут быть очень полезной моделью для данных исследований. Например, введение антагониста NMDA рецепторов дизоцилпина (МК-801) вызывает у зебраданио гиперлокомоцию (напоминающая психомоторное возбуждение — характерный симптом шизофрении [170]), а также социальные и когнитивные нарушения [171]. Вызываемые МК-801 локомоторные эффекты устраняются типичными (галоперидол) и атипичными (оланзапин и сульпирид) антипсихотиками [170], в то время как вызванные МК-801 социальные и когнитивные нарушения — только атипичным препаратами [171].

Важно отметить, что атипичные нейролептики имеют сродство к дофамин-, серотонин-, глутамат-ергическим и другим рецепторам мозга. Например, рисперидон действует через рецепторы дофамина D2 и серотонина 5-HT<sub>2</sub>, и является перспективным анксиолитическим средством [71]. Стрессированные рыбы после введения рисперидона проводят больше времени в верхней части в тесте нового аквариума, реже переходят в темноту в тесте черно-белая камера [111] и демонстрируют более низкий уровень кортизола [71]. Пуринергическая система также вовлечена в патогенез шизофрении, поскольку аденозин, конечный продукт каскада эктонуклеотидазы, модулирует дофамин и глутамат [93]. У зебраданио галоперидол снижает гидролиз АТФ и дезаминирование аденозина, тем самым снижая уровни синаптического аденозина, предполагая внеклеточный механизм действия на физиологические мишени [169].

Аддиктивное поведение (зависимость), вызванное употреблением ряда психоактивных веществ, также может быть смоделировано на личинках и взрослых зебраданио [182]. Например, тест условно-рефлекторного предпочтения (УР-

ПМ) может применяться для изучения механизмов зависимости, толерантности и формирования абстинентного синдрома (отмены) [31, 32, 116]. Этот тест широко используется на зебраданио, грызунах и других организмах для исследования эффектов психоактивных соединений на ассоциативное обучение [105]. У рыб классический аддиктивный препарат этанол оказывает характерное дозозависимое действие на поведение, в низких дозах (<0.5%) увеличивая общую локомоцию, скорость плавания и среднее расстояние между особями в тесте на построение косяка [58]. Острое 20-минутное воздействие 1% этанола оказывает анксиолитическое действие на зебраданио, тогда как более длительное воздействие той же дозы (или более высоких доз) угнетает локомоцию и вызывает седативный эффект [58, 137, 165, 194]. Поведенческие эффекты этанола на зебраданио в тесте УРПМ наблюдаются после однократного воздействия доз 0.25–1.5% [32, 115]. Длительное применение УРПМ (например, ежедневная габикуация в течение 4 нед.) обеспечивает устойчивые поведенческие ответы зебраданио, которые сохраняются после отмены вещества, что указывает на возникновение аддиктивного поведения [84]. Отмена нейротропных препаратов после хронического воздействия вызывает стойкие физиологические симптомы синдрома отмены у взрослых зебраданио, включающие тревожное поведение и повышенный уровень кортизола [27].

Зебраданио также демонстрируют широкий спектр дозозависимых ответов на никотин [27, 84], который в дозах от низких до умеренных (3–300 мкМ) вызывает анксиолитические реакции в тесте нового аквариума [96] и УРПМ [84]. Поведенческие эффекты никотина также сопровождаются геномными изменениями, что позволяет идентифицировать гены-кандидаты, участвующие в формировании никотиновой зависимости у человека [148], например, гены кальциневрина В и рецептора гипокретина, которые связаны с синаптической пластичностью и модуляцией нейротрансмиссии [84].

Острые дозы кокаина (5, 10 и 15 мг/л) вызывают устойчивые состояния возбуждения, у рыб проявляясь как медленное движение по кругу, нахождение вблизи дна и агрессивное поведение [39]. Отмена кокаина вызывает у зебраданио симптомы синдрома отмены в течение 72 ч, при этом животные демонстрируют тревожное поведение и гиперлокомоцию [101]. Кокаин также вызывает дозозависимые ответы в тесте УРПМ, при этом доза 10 мг/л вызывает наиболее устойчивый ответ [39]. Метамфетамин является мощным психостимулятором с высоким риском вызова зависимости, а также тревоги и депрессии [1]. Его острое введение рыбам вызывает избегание и увеличивает скорость плавания [121]. Холинергиче-

ская система также может играть роль в модулировании эффектов различных нейротропных препаратов, а генетическое нарушение АХЭ снижает амфетамин-индуцированный ответ в тесте УРПМ у взрослых зебрании [134]. Таким образом, зебрании демонстрируют чувствительность к психостимуляторам и могут стать полезной моделью для изучения препаратов для лечения зависимости [121].

Галлюциногенные агенты включают классические серотониновые психоделики, диссоциативные средства (которые действуют как антагонисты NMDA рецепторов), делирианты (которые действуют как холинолитики), и опиоиды [92]. Классические психоделики, например, диэтиламид лизергиновой кислоты (ЛСД), мескалин и псилоцибин, изменяют общую локомоцию, стайное и тревожное поведение у зебрании, а также уровень кортизола в организме [92]. Кетамин, как диссоциативный галлюциноген, вызывает дозозависимый анксиолитический эффект у зебрании и снижает уровень кортизола [41]. Тилетамин, обладающий опиоидными эффектами на ЦНС, в дозах 5 и 10 мг/л оказывает сильное дозозависимое седативное действие на зебрании [88]. Делириантный галлюциноген атропин влияет на холинергическую нервную активность у зебрании [142], вызывая тревожно-подобное действие на поведение рыб. Хотя эффекты галлюциногенов на зебрании изучены еще недостаточно, можно ожидать, что чувствительность данного организма к этим веществам позволит обнаружить новые мишени для терапии, что является особенно актуальным с учетом растущего в последнее время интереса как к злоупотреблению галлюциногенными агентами, так и к их потенциалу для терапии [92].

Седативные средства активно используют для лечения тревожных расстройств, в основном модулируя гистамин-, ГАМК- и адренергическую систему мозга [89]. Зебрании имеют сходное строение субъединиц ГАМК-А и ГАМК-В рецепторов и рецептора гистамина Н1 с млекопитающими [159] и очень чувствительны к широкому спектру седативных средств. Например, высокие дозы хлордиазепоксиды значительно снижают скорость плавания, в то время как диазепам оказывает двухфазное действие на тревожность зебрании, в низких и умеренных дозах снижая пребывание на дне, а в более высоких — вызывая седацию [17]. Хроническое двухнедельное воздействие диазепама после отмены вызывает у зебрании симптомы, похожие на абстинентный синдром, в том числе тревогу в тесте черно-белая камера [27].

## ПЕРСПЕКТИВЫ СКРИНИНГА МАЛЫХ НЕЙРОТРОПНЫХ МОЛЕКУЛ НА ЗЕБРАДАНИО

Зебрании хорошо подходят для поведенческого, геномного и протеомного тестирования [73, 155], поскольку сочетают в себе относительную простоту нервной системы и сложность поведения, достаточную для изучения поведенческих процессов. Специальное программное обеспечение для видеонаблюдения может анализировать широкий спектр показателей поведения зебрании, включая скорость, пройденное расстояние, предпочтение места (например, верх или низ аквариума) и определенные паттерны (например, стереотипное кружение на месте) [34, 147]. Также возможно одновременно регистрировать поведение всех особей зебрании в стае, чтобы извлекать обширные массивы данные о тревожности на основании анализа среднего расстояния между рыбами, их поляризации и плотности стаи [183]. Помимо автоматической регистрации поведения, существуют автоматизированные системы введения препаратов и компьютеризация стимулов — например, в моделях введения нейротропных веществ или предъявления страха [167], что в совокупности повышает стандартизацию процедур тестирования и обеспечивает эффективный сбор и надежную воспроизводимость данных [103, 184].

Поведенческие параметры зебрании (в отличие от грызунов) также возможно отслеживать в трехмерном пространстве — в формате 3D [185]. Например, траектории плавания по осям *X*, *Y* и *Z* могут отслеживаться двумя камерами, создавая два файла с двухмерными траекториями, интегрированными для создания трехмерного изображения траектории движения рыбы, которое может помочь идентифицировать уникальные фенотипические профили, вызванные воздействием физиологически активных нейротропных агентов [183, 185]. Помимо траектории движения, программное обеспечение может различать хвост, середину тела и нос зебрании, что может использоваться для определения специфических движений и фенотипов, таких как преследование и укус оппонента в тесте зеркальной агрессии, или брачное поведение [74, 184]. Использование данного подхода для анализа сложного поведения зебрании особенно полезно в исследованиях с использованием физиологически активных препаратов, которые действуют сразу на несколько молекулярных мишеней, или их комбинации [117].

Поскольку многие расстройства ЦНС связаны с дефицитом нескольких нейротрансмиттерных систем и имеют мультигенную этиологию [81, 138], использование зебрании для проведения экспериментальных исследований для выявления потенциальных молекулярных мишеней имеет большое практическое и эксперименталь-



ное значение. Комбинация методов поведенческого фенотипирования, включая поведенческое фенотипирование отдельных соединений *in vivo* в формате 2D или 3D, создание и анализ их уникальных траекторий плавания (тигмотаксис, сколотаксис, средняя скорость плавания и т.д.), определение соединений, которые воспроизводят поведенческий фенотип зебраданио, и их последующий углубленный анализ с помощью алгоритмов, которые предсказывают их биологическую мишень, представляет собой современный и наиболее комплексный подход к поиску и разработке новых лекарственных средств [117].

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЗЕБРАДАНИО ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПАМЯТИ

Зебраданио широко используются для изучения процессов обучения, памяти и патологий, связанных с нарушениями данных функций. Большинство когнитивных тестов, используемых для грызунов, были адаптированы для рыб, позволяя оценить привыкание, УРПМ, пассивное и активное избегание, а также пространственное ориентирование и визуальное различение сигналов, форм и цветов [11]. Например, габитуация (привыкание) возникает, когда реакция организма на раздражитель становится менее вероятностной или выраженной после повторного предъявления стимула [157, 190]. Она является одной из форм активного научения, поскольку информация о реакции на предыдущий стимул используется в формировании ответа на последующий. Для оценки габитуации зебраданио адаптированы поведенческие тесты, использовавшиеся для грызунов. Так, например, реакция испуга (startle) при резком звуке, постукивании или прикосновении широко используется для оценки эффектов нейрoактивных соединений как на личинках, так и взрослых особях зебраданио [47, 100, 112].

УРПМ предназначен для оценки поведения выбора места, где ранее был предъявлен какой-либо стимул или препарат [13, 208]. Такой тип поведения является врожденным и демонстрирует способность рыб к обучению, несмотря на то, что чаще всего данный тест используют для оценки аддиктивного поведения и нейротропных эффектов кокаина [39], никотина [79], опиатов [94], этанола [143] и МК-801 [188]. Протокол тестирования УРПМ для зебраданио, аналогично грызунам, включает одновременное предъявление двух стимулов (например, цветных карточек) и интересующего нейротропного агента. Стимул, с которым подавался препарат, приобретает вторичные эффекты вознаграждения. Положительные стимулы, в том числе, пищевые, обычно стимулируют животных проводить больше времени в среде, связанной с ними, и поэтому данная реакция оценивается в тесте УРПМ по продолжитель-

ности, частоте и латентности нахождения в данной среде.

Поведение активного избегания (когда животное обучено, что его действия приведут к избеганию нежелательного стимула) и пассивного избегания (когда животное учится избегать отсека, ранее связанный с отрицательным стимулом) также можно оценить на зебраданио [85, 131, 161, 171, 195]. Эффективность данного обучения определяется количеством времени, проведенного вне среды, связанной с негативным стимулом [195]. Тестирование проводится после обучения зебраданио, основанного на стремлении избежать определенную зону аквариума, в которой подается негативный стимул. В опытах фиксируется время, проведенное в отсеке, не содержащем негативный стимул [195]. Помимо этого, тест пассивного избегания может использоваться для оценки ассоциативного обучения и функций памяти при воздействии нейрoлептиков [171], амнестиков (скополамина [85, 161], МК-801 [131]) и других нейротропных физиологически активных соединений.

Большое количество других тестов для изучения процессов памяти было также адаптировано для зебраданио, и включают модификации лабиринтов (в том числе Т- и У-образные, рис. 2), а также тест на распознавание новых объектов, заключающийся в оценке длительности изучения нового объекта по сравнению со знакомым [7] сразу, или спустя промежуток времени (от нескольких часов до дней) [107]. Кроме непосредственной демонстрации объекта, существуют модификации протокола, когда рыбам предъявляются виртуальные объекты [22]. Для характеристики функций памяти зебраданио также часто используется парадигма латентного обучения, которое представляет собой предварительное изучение среды или объекта животным с последующим тестированием. Животное, которое заранее исследовало незнакомую среду, лучше ориентируется в тесте, чем те, кто попадает в незнакомую обстановку, за счет наличия предыдущего опыта [191].

Тесты на пространственное различение (например, Т-образный лабиринт, норковая камера, 3-камерный тест или вертикальный крестообразный лабиринт) и визуальное различение (например, цвета или узора) широко используют для оценки оперантного научения при соответствующем подкреплении или наказании. Т- и У-образные лабиринты основаны на создании ситуаций, требующих опыта пространственного распознавания. Тестирование обычно включает в себя поощрение (например, когда животное демонстрирует “правильное” поведение, заплывая в целевые рукава) или наказание (током, сачком) при выборе “неправильного” направления движения. Положительными стимулами может быть пища, или демонстрация рыб-сородичей. Вертикаль-

ный крестообразный лабиринт состоит из аквариума с четырьмя расположенными друг над другом отделениями  $2 \times 2$  см. Данный тест также оценивает пространственное обучение зебраданию памяти с помощью положительного подкрепления [150]. Наконец, помимо пространственного обучения, зебраданию демонстрируют способность к визуальному распознаванию, например, заплывая в красный или синий отсек, который ранее был связан с подачей положительного стимула (например, пищи или изображения сородичей) при приближении или входе в визуально различимую зону [33]. Одним из преимуществ данных тестов является качественно иное измерение процессов памяти, заключающееся в одновременной оценке процессов обучения и памяти.

### ОГРАНИЧЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЗЕБРАДАНИО КАК МОДЕЛИ ДЛЯ НЕЙРОПОВЕДЕНЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Несмотря на ряд преимуществ зебраданию как модельного организма в области трансляционных и доклинических исследований широкого спектра нейроповеденческих доменов ЦНС, эти модели также имеют ряд существенных ограничений. О них обязательно необходимо знать исследователям, работающим или собирающимся работать с зебраданием. Например, введение вещества путем водной иммерсии требует использования водорастворимых средств либо дополнительного введения растворителя, например, диметилсульфоксида (ДМСО). Однако существуют и другие способы введения препаратов рыбам, например, пероральное [91] или внутривенное [130] введение, или внутрибрюшинные инъекции [144], которые могут решить данную проблему. Также, введение вещества путем погружения в раствор имеет некоторое несоответствие путям введения, используемым для других животных, однако, данное ограничение можно валидизировать, измеряя концентрации непосредственно в тканях-мишенях зебраданию и сравнивая их с другими организмами. Помимо этого, фармакокинетика некоторых соединений может сильно отличаться у зебраданию по сравнению с людьми или грызунами, либо на абсорбцию из воды может влиять наличие или отсутствие хориона, если исследования проводятся во время эмбрионального развития [51], что требует проведения исследований на дополнительных моделях.

Ввиду различия путей введения веществ в организм зебраданию также необходимо отметить возникающие сложности с подбором дозы экспериментальных препаратов. С одной стороны, прямой перенос дозировок с грызунов на рыб в

ряде случаев возможен (условно,  $1 \text{ мг/кг}$  внутрибрюшинно =  $1 \text{ мг/л}$  иммерсией), и работает для многих препаратов. Однако, поскольку при введении вещества путем водной иммерсии зебраданию находится в растворе постоянно, зачастую необходимо снижать концентрацию исследуемого соединения во избежание развития токсических эффектов у рыб. Также при подборе дозы необходимо руководствоваться данными о химических аналогах исследуемых соединений, их растворимости и таргетных взаимодействиях с рецепторами и белками. Гомология рецепторов и моноаминовых систем между рыбами и млекопитающими позволяет предполагать аналогичные эффекты соединений, а наличие обширных баз данных нейрофенотипов зебраданию может существенно облегчить подбор концентраций новых веществ-аналогов уже известных препаратов.

Анатомические особенности строения головного мозга также накладывают определенные ограничения на использование зебраданию в моделировании заболеваний ЦНС человека. Так, например, зебраданию не имеет коры или выраженного гиппокампа [139], однако, в их мозге существуют аналогичные структуры, подобные таковым у млекопитающих, которые позволяют использовать данную модель в доклинических исследованиях. Кроме того, как уже отмечалось, у зебраданию отсутствуют выраженные дофаминергические популяции среднего мозга, такие как черная субстанция и вентральная область покрышки [139]. Несмотря на это, рыбы демонстрируют поведение, связанное с активацией этих областей и чувствительное к фармакологической стимуляции, нацеленной на дофамин [140]. Другие системы нейротрансмиттеров, таких как гистамина и оксида азота, также еще не полностью охарактеризованы у зебраданию и требуют дальнейших исследований [162].

Зебраданию также обладает существенными дополнительными ограничениями. Например, существует сложность моделирования специфических заболеваний эмоционального спектра (страх/фобии вместо общей тревоги), а также отмечается отсутствие родительского поведения у зебраданию (что затрудняет моделирование болезней развития ЦНС, основанных на материнской депривации). Также следует отметить проблематичность моделей на рыбах на фоне трудностей с оценкой количества реально попавшего препарата в организм, необходимости учитывать особенности проницаемости гематоэнцефалического барьера у рыб (несколько более проницаем, чем у грызунов), а также важности липофильности таргетных молекул при их всасывании из воды жабрами и кожей. Наконец, отсутствие нейроповеденческих моделей и тестов на рыбах среди одобренных национальных или международных стандартов в области доклинических иссле-

дований нейротропных препаратов до сих пор тормозит введение зебраданио в биомедицину как эффективной платформы для биоскрининга широкого спектра нейробиологических процессов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поиск и разработка новых физиологически активных нейротропных препаратов для коррекции патологий ЦНС требует активного внедрения в нейробиологические и физиологические исследования новых модельных организмов, в особенности зебраданио. Чувствительность к основным классам нейротропных физиологически активных веществ, быстрое развитие, а также гомология геномов и био(нейро)химических систем рыб и млекопитающих делает данный модельный организм незаменимым инструментом для нейробиологии, физиологии и трансляционной биомедицины. Довольно высокая предиктивная, конструктивная и лицевая валидность моделей заболеваний ЦНС, обсуждаемая выше, делает зебраданио высокоэффективным организмом для поиска и скрининга физиологически активных веществ с потенциальными нейротропными свойствами. В целом, несмотря на ряд ограничений зебраданио как модельного организма в нейробиологии, его потенциальная суммарная полезность существенно перевешивает данные ограничения, и позволяет рассматривать зебраданио как чрезвычайно перспективный и стратегически важный организм для изучения физиологии ЦНС в норме и патологии.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке средств гранта РФФИ (проект № 23-25-00246). Статья посвящена светлой памяти замечательного ученого-физиолога и друга, профессора Юрия Федотовича Пастухова (1936–2022), крупного специалиста в области фундаментальных проблем биомедицины.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Akindipe T., Wilson D., Stein D.J.* Psychiatric disorders in individuals with methamphetamine dependence: prevalence and risk factors // *Metabolic brain disease*. 2014. V. 29. № 2. P. 351.
2. *Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G.* Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition // *Biochemical journal*. 2001. V. 357. № 3. P. 593.
3. *Alfaro J.M., Ripoll-Gómez J., Burgos J.S.* Kainate administered to adult zebrafish causes seizures similar to those in rodent models // *European J. of Neuroscience*. 2011. V. 33. № 7. P. 1252.
4. *Alsop D., Vijayan M.* The zebrafish stress axis: molecular fallout from the teleost-specific genome duplication event // *General and comparative endocrinology*. 2009. V. 161. № 1. P. 62.

5. *Alsop D., Vijayan M.M.* Development of the corticosteroid stress axis and receptor expression in zebrafish // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2008. V. 294. № 3. P. 711.
6. *Amores A., Catchen J., Ferrara A., Fontenot Q., Postlethwait J.H.* Genome evolution and meiotic maps by massively parallel DNA sequencing: spotted gar, an outgroup for the teleost genome duplication // *Genetics*. 2011. V. 188. № 4. P. 799.
7. *Antunes M., Biala G.* The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications // *Cognitive processing*. 2012. 13. № 2. P. 93.
8. *Arenzana F.J., Clemente D., Sánchez-González R., Porteros A., Aijón J., Arévalo R.* Development of the cholinergic system in the brain and retina of the zebrafish // *Brain research bulletin*. 2005. V. 66. № 4–6. P. 421.
9. *Arunachalam M., Raja M., Vijayakumar C., Malaiammal P., Mayden R.L.* Natural history of zebrafish (*Danio rerio*) in India // *Zebrafish*. 2013. V. 10. № 1. P. 1.
10. *Association AP.* Diagnostic and statistical manual of mental disorders: American Psychiatric Publishing. 2013.
11. *Bailey J.M., Oliveri A.N., Levin E.D.* Pharmacological analyses of learning and memory in zebrafish (*Danio rerio*) // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2015. V. 139. P. 103.
12. *Baraban S.C., Dinday M.T., Hortopan G.A.* Drug screening in Scn1a zebrafish mutant identifies clemizole as a potential Dravet syndrome treatment // *Nature communications*. 2013. V. 4. № 1. P. 1.
13. *Bardo M., Bevins R.A.* Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? // *Psychopharmacology*. 2000. V. 153. № 1. P. 31.
14. *Barr A.M., Markou A.* Psychostimulant withdrawal as an inducing condition in animal models of depression // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2005. V. 29. № 4–5. P. 675.
15. *Baxendale S., Holdsworth C.J., Meza Santoscoy P.L. et al.* Identification of compounds with anti-convulsant properties in a zebrafish model of epileptic seizures // *Disease models & mechanisms*. 2012. V. 5. № 6. P. 773.
16. *Belanoff J.K., Gross K., Yager A., Schatzberg A.F.* Corticosteroids and cognition // *Journal of psychiatric research*. 2001. V. 35. № 3. P. 127.
17. *Bencan Z., Sledge D., Levin E.D.* Buspirone, chlordiazepoxide and diazepam effects in a zebrafish model of anxiety // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2009. V. 94. № 1. P. 75.
18. *Benes F.M., Berretta S.* GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder // *Neuropsychopharmacology*. 2001. V. 25. № 1. P. 1.
19. *Bloom H.D., Perlmuter A.* A sexual aggregating pheromone system in the zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan) // *Journal of Experimental Zoology*. 1977. V. 199. № 2. P. 215.
20. *Boehmler W., Obrecht-Pflumio S., Canfield V., Thisse C., Thisse B., Levenson R.* Evolution and expression of D2 and D3 dopamine receptor genes in zebrafish // *Developmental dynamics: an official publication of*

- the American Association of Anatomists. 2004. V. 230. № 3. P. 481.
21. *Braida D., Donzelli A., Martucci R. et al.* Neurohypophyseal hormones manipulation modulate social and anxiety-related behavior in zebrafish // *Psychopharmacology*. 2012. V. 220. № 2. P. 319.
  22. *Braida D., Ponzoni L., Martucci R., Sala M.* A new model to study visual attention in zebrafish // *Progress in Neuro-Psychophar. and Bio. Psych.* 2014. V. 55. P. 80.
  23. *Brambilla P., Perez J., Barale F., Schettini G., Soares J.* GABAergic dysfunction in mood disorders // *Molecular psychiatry*. 2003. V. 8. № 8. P. 721.
  24. *Brown K.H., Dobrinski K.P., Lee A.S. et al.* Extensive genetic diversity and substructuring among zebrafish strains revealed through copy number variant analysis // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. V. 109. № 2. P. 529.
  25. *Bruni G., Rennekamp A.J., Velenich A. et al.* Zebrafish behavioral profiling identifies multitarget antipsychotic-like compounds // *Nature chemical biology*. 2016. V. 12. № 7. P. 559.
  26. *Bystritsky A.* Treatment-resistant anxiety disorders // *Molecular psychiatry*. 2006. V. 11. № 9. P. 805.
  27. *Cachat J., Stewart A., Utterback E. et al.* Three-dimensional neurophenotyping of adult zebrafish behavior // *PloS one*. 2011. V. 6. № 3. P. 17597.
  28. *Canavella P.R., Cachat J.M., Beeson E.C. et al.* Measuring endocrine (cortisol) responses of zebrafish to stress // *Zebrafish neurobehavioral protocols*: Springer. 2011. p. 135.
  29. *Clemente D., Porteros A., Weruaga E. et al.* Cholinergic elements in the zebrafish central nervous system: Histochemical and immunohistochemical analysis // *Journal of Comparative Neurology*. 2004. V. 474. № 1. P. 75.
  30. *Coe T., Hamilton P., Griffiths A., Hodgson D., Wahab M., Tyler C.* Genetic variation in strains of zebrafish (*Danio rerio*) and the implications for ecotoxicology studies // *Ecotoxicology*. 2009. V. 18. № 1. P. 144.
  31. *Collier A.D., Echevarria D.J.* The utility of the zebrafish model in conditioned place preference to assess the rewarding effects of drugs // *Behavioural pharmacology*. 2013. V. 24. № 5–6. P. 375.
  32. *Collier A.D., Khan K.M., Caramillo E.M., Mohn R.S., Echevarria D.J.* Zebrafish and conditioned place preference: a translational model of drug reward // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2014. V. 55. P. 16.
  33. *Colwill R.M., Raymond M., Ferreira L., Escudero H.* Visual discrimination learning in zebrafish (*Danio rerio*). *Behav. proc.* 2005. V. 70(1). P. 19.
  34. *Conklin E.E., Lee K.L., Schlabach S.A., Woods I.G.* VideoHacking: automated tracking and quantification of locomotor behavior with open source software and off-the-shelf video equipment // *J. of Undergraduate Neuroscience Education*. 2015. V. 13. № 3. P. 120.
  35. *Cramer K.S., Leamey C.A., Sur M.* Nitric oxide as a signaling molecule in visual system development // *Progress in brain research*. 1998. V. 118. P. 101.
  36. *Cunliffe V.T.* Building a zebrafish toolkit for investigating the pathobiology of epilepsy and identifying new treatments for epileptic seizures // *J. of Neuroscience Methods*. 2016. V. 260. P. 91.
  37. *Dahlbom S.J., Backström T., Lundstedt-Enkel K., Winberg S.* Aggression and monoamines: effects of sex and social rank in zebrafish (*Danio rerio*) // *Behavioural brain research*. 2012. V. 228. № 2. P. 333.
  38. *Danilova N., Krupnik V.E., Sugden D., Zhdanova I.V.* Melatonin stimulates cell proliferation in zebrafish embryo and accelerates its development // *The FASEB journal*. 2004. V. 18. № 6. P. 751.
  39. *Darland T., Dowling J.E.* Behavioral screening for cocaine sensitivity in mutagenized zebrafish // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001. V. 98. № 20. P. 11691.
  40. *Darrow K.O., Harris W.A.* Characterization and development of courtship in zebrafish, *Danio rerio* // *Zebrafish*. 2004. V. 1. № 1. P. 40.
  41. *De Campos E.G., Bruni A.T., De Martinis B.S.* Ketamine induces anxiolytic effects in adult zebrafish: a multivariate statistics approach // *Behav. brain research*. 2015. V. 292. P. 537.
  42. *Delgado L., Schmachtenberg O.* Immunohistochemical localization of GABA, GAD65, and the receptor subunits GABA $\alpha$ 1 and GABAB1 in the zebrafish cerebellum // *The Cerebellum*. 2008. V. 7. № 3. P. 444.
  43. *Deussing J.M.* Animal models of depression // *Drug discovery today: disease models*. 2006. V. 3. № 4. P. 375.
  44. *Doldan M., Prego B., Holmqvist B., De Miguel E.* Distribution of GABA-immunolabeling in the early zebrafish (*Danio rerio*) brain // *European journal of morphology*. 1999. V. 37. № 2–3. P. 126.
  45. *Drapeau P., Saint-Amant L., Buss R.R., Chong M., McDearmid J.R., Brustein E.* Development of the locomotor network in zebrafish // *Progress in neurobiology*. 2002. V. 68. № 2. P. 85.
  46. *Edden R.A., Crocetti D., Zhu H., Gilbert D.L., Mostofsky S.H.* Reduced GABA concentration in attention-deficit/hyperactivity disorder // *Archives of general psychiatry*. 2012. V. 69. № 7. P. 750.
  47. *Eddins D., Cerutti D., Williams P., Linney E., Levin E.D.* Zebrafish provide a sensitive model of persisting neurobehavioral effects of developmental chlorpyrifos exposure: comparison with nicotine and pilocarpine effects and relationship to dopamine deficits // *Neurotoxicology and teratology*. 2010. V. 32. № 1. P. 99.
  48. *Engeszer R.E., Patterson L.B., Rao A.A., Parichy D.M.* Zebrafish in the wild: a review of natural history and new notes from the field // *Zebrafish*. 2007. V. 4. № 1. P. 21.
  49. *Engeszer R.E., Wang G., Ryan M.J., Parichy D.M.* Sex-specific perceptual spaces for a vertebrate basal social aggregative behavior // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008. V. 105. № 3. P. 929.
  50. *Eriksson K.S., Peitsaro N., Karlstedt K., Kaslin J., Panula P.* Development of the histaminergic neurons and expression of histidine decarboxylase mRNA in the zebrafish brain in the absence of all peripheral histaminergic systems // *European Journal of Neuroscience*. 1998. V. 10. № 12. P. 3799.
  51. *Fern Fernandes Y., Tran S., Abraham E., Gerlai R.* Embryonic alcohol exposure impairs associative learning

- performance in adult zebrafish // *Behav. brain research*. 2014. V. 265. P. 181.
52. *Filippi A., Mueller T., Driever W.* vglut2 and gad expression reveal distinct patterns of dual GABAergic versus glutamatergic cotransmitter phenotypes of dopaminergic and noradrenergic neurons in the zebrafish brain // *Journal of Comparative Neurology*. 2014. V. 522. № 9. P. 2019.
53. *Fredriksson R., Schiöth H.B.* The repertoire of G-protein-coupled receptors in fully sequenced genomes // *Molecular pharmacology*. 2005. V. 67. № 5. P. 1414.
54. *Fritsche R., Schwerte T., Pelster B.* Nitric oxide and vascular reactivity in developing zebrafish, *Danio rerio* // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2000. V. 279. № 6. P. 2200.
55. *Fulcher N., Tran S., Shams S., Chatterjee D., Gerlai R.* Neurochemical and behavioral responses to unpredictable chronic mild stress following developmental isolation: the zebrafish as a model for major depression // *Zebrafish*. 2017. V. 14. № 1. P. 23.
56. *Fumagalli F., Molteni R., Racagni G., Riva M.A.* Stress during development: Impact on neuroplasticity and relevance to psychopathology // *Progress in neurobiology*. 2007. V. 81. № 4. P. 197.
57. *Gerlach G.* Pheromonal regulation of reproductive success in female zebrafish: female suppression and male enhancement // *Animal Behaviour*. 2006. V. 72. № 5. P. 1119.
58. *Gerlai R., Lahav M., Guo S., Rosenthal A.* Drinks like a fish: zebra fish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects // *Pharmacology biochemistry and behavior*. 2000. V. 67. № 4. P. 773.
59. *Griebel G., Holmes A.* 50 years of hurdles and hope in anxiolytic drug discovery // *Nature reviews Drug discovery*. 2013. V. 12. № 9. P. 667.
60. *Griffiths B.B., Schoonheim P.J., Ziv L., Voelker L., Baier H., Gahtan E.* A zebrafish model of glucocorticoid resistance shows serotonergic modulation of the stress response // *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2012. V. 6. P. 68.
61. *Grone B.P., Baraban S.C.* Animal models in epilepsy research: legacies and new directions // *Nature neuroscience*. 2015. V. 18. № 3. P. 339.
62. *Hamilton F.* An account of the fishes found in the river Ganges and its branches // *Archibald Constable*. 1822.
63. *Hek K., Direk N., Newson R.S. et al.* Anxiety disorders and salivary cortisol levels in older adults: a population-based study // *Psychoneuroendocrinology*. 2013. V. 38. № 2. P. 300.
64. *Herbert J.* Cortisol and depression: three questions for psychiatry // *Psychological medicine*. 2013. V. 43. № 3. P. 449.
65. *Higashijima S.I., Mandel G., Fetcho J.R.* Distribution of prospective glutamatergic, glycinergic, and GABAergic neurons in embryonic and larval zebrafish // *J. of Comparative Neurology*. 2004. V. 480. № 1. P. 1.
66. *Holmqvist B., Ellingsen B., Alm P. et al.* Identification and distribution of nitric oxide synthase in the brain of adult zebrafish // *Neuroscience letters*. 2000. V. 292. № 2. P. 119.
67. *Holsboer F.* Stress, hypercortisolism and corticosteroid receptors in depression: implications for therapy // *Journal of affective disorders*. 2001. V. 62. № 1–2. P. 77.
68. *Holzschuh J., Ryu S., Aberger F., Driever W.* Dopamine transporter expression distinguishes dopaminergic neurons from other catecholaminergic neurons in the developing zebrafish embryo // *Mechanisms of development*. 2001. V. 101. № 1–2. P. 237.
69. *Howell K.R., Kutiyawalla A., Pillai A.* Long-term continuous corticosterone treatment decreases VEGF receptor-2 expression in frontal cortex // *PLoS one*. 2011. V. 6. № 5. P. 20198.
70. *Hsieh D.J.Y., Liao C.F.* Zebrafish M2 muscarinic acetylcholine receptor: cloning, pharmacological characterization, expression patterns and roles in embryonic bradycardia // *British journal of pharmacology*. 2002. V. 137. № 6. P. 782.
71. *Idalencio R., Kalichak F., Rosa J.G.S. et al.* Waterborne risperidone decreases stress response in zebrafish // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 10. P. 0140800.
72. *Insel T.R., Voon V., Nye J.S. et al.* Innovative solutions to novel drug development in mental health // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2013. V. 37. № 10. P. 2438.
73. *Jones L.J., Norton W.H.* Using zebrafish to uncover the genetic and neural basis of aggression, a frequent comorbid symptom of psychiatric disorders // *Behav. brain research*. 2015. V. 276. P. 171.
74. *Kalueff A.V., Gebhardt M., Stewart A.M. et al.* Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond // *Zebrafish*. 2013. V. 10. № 1. P. 70.
75. *Kalueff A.V., Stewart A.M., Gerlai R.* Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders // *Trends in pharmacological sciences*. 2014. V. 35. № 2. P. 63.
76. *Kane J., Honigfeld G., Singer J., Meltzer H.* Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic: a double-blind comparison with chlorpromazine // *Archives of general psychiatry*. 1988. V. 45. № 9. P. 789.
77. *Kang J., Nachtrab G., Poss K.D.* Local Dkk1 crosstalk from breeding ornaments impedes regeneration of injured male zebrafish fins // *Developmental cell*. 2013. V. 27. № 1. P. 19.
78. *Kaslin J., Panula P.* Comparative anatomy of the histaminergic and other aminergic systems in zebrafish (*Danio rerio*) // *J. of Comparative Neurology*. 2001. V. 440. № 4. P. 342.
79. *Kedikian X., Faillace M.P., Bernabeu R.* Behavioral and molecular analysis of nicotine-conditioned place preference in zebrafish // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 7. P. 69453.
80. *Keedwell P.A., Poon L., Papadopoulos A.S., Marshall E.J., Checkley S.A.* Salivary cortisol measurements during a medically assisted alcohol withdrawal // *Addiction Biology*. 2001. V. 6. № 3. P. 247.
81. *Kendler K.S., Aggen S.H., Neale M.C.* Evidence for multiple genetic factors underlying DSM-IV criteria for major depression // *JAMA psychiatry*. 2013. V. 70. № 6. P. 599.
82. *Kessler R.C.* The global burden of anxiety and mood disorders: putting the European Study of the Epidemiology

- of Mental Disorders (ESEMeD) findings into perspective // *J. of Clinical Psychiatry*. 2007. V. 68. P. 10.
83. Kessler R.C., Chiu W.T., Demler O., Walters E.E. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication // *Archives of general psychiatry*. 2005. V. 62. № 6. P. 617.
  84. Kily L.J., Cowe Y.C., Hussain O. et al. Gene expression changes in a zebrafish model of drug dependency suggest conservation of neuro-adaptation pathways // *J. of Experimental Biology*. 2008. V. 211. № 10. P. 1623.
  85. Kim Y-H., Lee Y., Kim D., Jung M.W., Lee C.-J. Scopamine-induced learning impairment reversed by physostigmine in zebrafish // *Neuroscience Research*. 2010. V. 67. № 2. P. 156.
  86. Kim Y.-J., Nam R.-H., Yoo Y.M., Lee C.-J. Identification and functional evidence of GABAergic neurons in parts of the brain of adult zebrafish (*Danio rerio*) // *Neuroscience letters*. 2004. V. 355. № 1–2. P. 29.
  87. Klee E.W., Schneider H., Clark K.J. et al. Zebrafish: a model for the study of addiction genetics // *Human genetics*. 2012. V. 131. № 6. P. 977.
  88. Kolesnikova T.O., Khatsko S.L., Shevyrin V.A., Morzherin Y.Y., Kalueff A.V. Effects of a non-competitive N-methyl-d-aspartate (NMDA) antagonist, tiletamine, in adult zebrafish // *Neurotoxicology and Teratology*. 2017. V. 59. P. 62.
  89. Koob G.F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways // *Trends in pharmacological sciences*. 1992. V. 13. P. 177.
  90. Korte S. Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2001. V. 25. № 2. P. 117.
  91. Kulkarni P., Chaudhari G.H., Sripuram V., Banote R.K., Kirila K.T., Sultana R. et al. Oral dosing in adult zebrafish: proof-of-concept using pharmacokinetics and pharmacological evaluation of carbamazepine // *Pharm. Rep*. 2014. V. 66. № 1. P. 179.
  92. Kyzar E.J., Kalueff A.V. Exploring hallucinogen pharmacology and psychedelic medicine with zebrafish models // *Zebrafish*. 2016. V. 13. № 5. P. 379.
  93. Lara D., Souza D. Schizophrenia: a purinergic hypothesis // *Medical hypotheses*. 2000. V. 54. № 2. P. 157.
  94. Lau B., Bretaud S., Huang Y., Lin E., Guo S. Dissociation of food and opiate preference by a genetic mutation in zebrafish // *Genes, Brain and Behavior*. 2006. V. 5. № 7. P. 497.
  95. Lee S.L., Horsfield J.A., Black M.A., Rutherford K., Gemmell N.J. Identification of sex differences in zebrafish (*Danio rerio*) brains during early sexual differentiation and masculinization using 17 $\alpha$ -methyltestosterone // *Biology of Reproduction*. 2018. V. 99. № 2. P. 446.
  96. Levin E.D., Bencan Z., Cerutti D.T. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish // *Physiology & behavior*. 2007. V. 90. № 1. P. 54–8.
  97. Lieberman J.A., Stroup T.S., McEvoy J.P. et al. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia // *New England journal of medicine*. 2005. V. 353. № 12. P. 1209.
  98. Liew W.C., Orbán L. Zebrafish sex: a complicated affair // *Briefings in functional genomics*. 2014. V. 13. № 2. P. 172.
  99. Lillesaar C., Stigloher C., Tannhäuser B., Wullmann M.F., Bally-Cuif L. Axonal projections originating from raphe serotonergic neurons in the developing and adult zebrafish, *Danio rerio*, using transgenics to visualize raphe-specific pet1 expression // *Journal of Comparative Neurology*. 2009. V. 512. № 2. P. 158.
  100. Liu Y.-C., Bailey I., Hale M.E. Alternative startle motor patterns and behaviors in the larval zebrafish (*Danio rerio*) // *J. of Comparative Physiology A*. 2012. V. 198. № 1. P. 11.
  101. López-Patiño M.A., Yu L., Cabral H., Zhdanova I.V. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish // *Physiology & behavior*. 2008. V. 93. № 1–2. P. 160.
  102. Lovallo W.R. Cortisol secretion patterns in addiction and addiction risk // *International Journal of Psychophysiology*. 2006. V. 59. № 3. P. 195.
  103. Love D.R., Pichler F.B., Dodd A., Copp B.R., Greenwood D.R. Technology for high-throughput screens: the present and future using zebrafish // *Current opinion in biotechnology*. 2004. V. 15. № 6. P. 564.
  104. Lucassen P., Oomen C., Schouten M., Encinas J., Fitzsimons C. Adult neurogenesis, chronic stress and depression // *Adult Neurogenesis in the Hippocampus*: Elsevier. 2016. P. 177.
  105. Lucke-Wold B. The varied uses of conditioned place preference in behavioral neuroscience research: an investigation of alcohol administration in model organisms // *Impulse (Columbia, SC)*. 2011.
  106. Lucki I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin // *Biological psychiatry*. 1998. V. 44. № 3. P. 151.
  107. Lucon-Xiccato T., Dadda M. Assessing memory in zebrafish using the one-trial test // *Behavioural processes*. 2014. V. 106. P. 1.
  108. Lundegaard P.R., Anastasaki C., Grant N.J. et al. MEK inhibitors reverse cAMP-mediated anxiety in zebrafish // *Chemistry & biology*. 2015. V. 22. № 10. P. 1335.
  109. Ma P.M. Catecholaminergic systems in the zebrafish. I. Number, morphology, and histochemical characteristics of neurons in the locus coeruleus // *J. of Comparative Neurology*. 1994. V. 344. № 2. P. 242.
  110. Ma P.M. Catecholaminergic systems in the zebrafish. II. Projection pathways and pattern of termination of the locus coeruleus // *Journal of Comparative Neurology*. 1994. V. 344. № 2. P. 256.
  111. Magno L.D.P., Fontes A., Gonçalves B.M.N., Gouveia Jr.A. Pharmacological study of the light/dark preference test in zebrafish (*Danio rerio*): Waterborne administration // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2015. V. 135. P. 169.
  112. Mann K.D., Hoyt C., Feldman S., Blunt L., Raymond A., Page-McCaw P.S. Cardiac response to startle stimuli in larval zebrafish: sympathetic and parasympathetic components // *American J. of Physiology-Regulatory, Integr. and Compar. Physiology*. 2010. V. 298. № 5. P. 1288.
  113. Marcon M., Herrmann A.P., Mocelin R. et al. Prevention of unpredictable chronic stress-related phenomena in zebrafish exposed to bromazepam, fluoxetine

- and nortriptyline // *Psychopharmacology*. 2016. V. 233. № 21. P. 3815.
114. *Martín I., Gómez A., Salas C., Puerto A., Rodríguez F.* Dorsomedial pallium lesions impair taste aversion learning in goldfish // *Neurobiology of Learning and Memory*. 2011. V. 96. № 2. P. 297.
  115. *Mathur P., Berberoglu M.A., Guo S.* Preference for ethanol in zebrafish following a single exposure // *Behav. brain research*. 2011. V. 217. № 1. P. 128.
  116. *Mathur P., Guo S.* Use of zebrafish as a model to understand mechanisms of addiction and complex neurobehavioral phenotypes // *Neurobiology of disease*. 2010. V. 40. № 1. P. 66.
  117. *McCarroll M.N., Gendele L., Keiser M.J., Kokel D.* Leveraging large-scale behavioral profiling in zebrafish to explore neuroactive polypharmacology. *ACS chemical biology*. 2016. V. 11. № 4. P. 842.
  118. *McClure M., McIntyre P., McCune A.* Notes on the natural diet and habitat of eight danionin fishes, including the zebrafish *Danio rerio* // *Journal of Fish Biology*. 2006. V. 69. № 2. P. 553.
  119. *McLean D.L., Fetcho J.R.* Ontogeny and innervation patterns of dopaminergic, noradrenergic, and serotonergic neurons in larval zebrafish // *J. of Comparative Neurology*. 2004. V. 480. № 1. P. 38.
  120. *Meyer A., Scharl M.* Gene and genome duplications in vertebrates: the one-to-four (-to-eight in fish) rule and the evolution of novel gene functions // *Current opinion in cell biology*. 1999. V. 11. № 6. P. 699.
  121. *Mi G., Gao Y., Yan H. et al.* l-Scoulerine attenuates behavioural changes induced by methamphetamine in zebrafish and mice // *Behav. brain research*. 2016. V. 298. P. 97.
  122. *Miyamoto S., Duncan G., Marx C., Lieberman J.* Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs // *Molecular psychiatry*. 2005. V. 10. № 1. P. 79.
  123. *Moncada S., Nisticò G., Bagetta G., Higgs E.* Nitric Oxide and the Cell: Proliferation, Differentiation, and Death: Princeton University Press. 2017.
  124. *Mueller T., Dong Z., Berberoglu M.A., Guo S.* The dorsal pallium in zebrafish, *Danio rerio* (Cyprinidae, Teleostei) // *Brain research*. 2011. V. 1381. P. 95.
  125. *Mueller T., Guo S.* The distribution of GAD67-mRNA in the adult zebrafish (teleost) forebrain reveals a prosomeric pattern and suggests previously unidentified homologies to tetrapods // *J. of Comparative Neurology*. 2009. V. 516. № 6. P. 553.
  126. *Mueller T., Vernier P., Wullimann M.F.* A phylotypic stage in vertebrate brain development: GABA cell patterns in zebrafish compared with mouse // *J. of Comparative Neurology*. 2006. V. 494. № 4. P. 620.
  127. *Nagabhushana A., Mishra R.K.* Finding clues to the riddle of sex determination in zebrafish // *Journal of biosciences*. 2016. V. 41. № 1. P. 145.
  128. *Nechiporuk A., Finney J.E., Keating M.T., Johnson S.L.* Assessment of polymorphism in zebrafish mapping strains // *Genome Research*. 1999. V. 9. № 1. P. 1231.
  129. *Neelkantan N., Mikhaylova A., Stewart A.M. et al.* Perspectives on zebrafish models of hallucinogenic drugs and related psychotropic compounds // *ACS chemical neuroscience*. 2013. V. 4. № 8. P. 1137.
  130. *Nery L.R., Eltz N.S., Hackman C., Fonseca R., Altenhofen S., Guerra H.N. et al.* Brain intraventricular injection of amyloid- $\beta$  in zebrafish embryo impairs cognition and increases tau phosphorylation, effects reversed by lithium // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 9. P. 105862.
  131. *Ng M.-C., Hsu C.-P., Wu Y.-J. et al.* Effect of MK-801-induced impairment of inhibitory avoidance learning in zebrafish via inactivation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in telencephalon // *Fish physiology and biochemistry*. 2012. V. 38. № 4. P. 1099.
  132. *Nguyen M., Stewart A.M., Kalueff A.V.* Aquatic blues: modeling depression and antidepressant action in zebrafish // *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*. 2014. V. 55. P. 26.
  133. *Ninkovic J., Bally-Cuif L.* The zebrafish as a model system for assessing the reinforcing properties of drugs of abuse // *Methods*. 2006. V. 39. № 3. P. 262.
  134. *Ninkovic J., Folchert A., Makhankov Y.V. et al.* Genetic identification of AChE as a positive modulator of addiction to the psychostimulant D-amphetamine in zebrafish // *Journal of neurobiology*. 2006. V. 66. № 5. P. 463.
  135. *Norton W.H., Folchert A., Bally-Cuif L.* Comparative analysis of serotonin receptor (HTR1A/HTR1B families) and transporter (slc6a4a/b) gene expression in the zebrafish brain // *Journal of Comparative Neurology*. 2008. V. 511. № 4. P. 521.
  136. *Pando M.P., Sassone-Corsi P.* Unraveling the mechanisms of the vertebrate circadian clock: zebrafish may light the way // *Bioessays*. 2002. V. 24. № 5. P. 419.
  137. *Pannia E., Tran S., Rampersad M., Gerlai R.* Acute ethanol exposure induces behavioural differences in two zebrafish (*Danio rerio*) strains: a time course analysis // *Behav. brain research*. 2014. V. 259. P. 174.
  138. *Pantelis C., Papadimitriou G.N., Papiol S. et al.* Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci // *Nature*. 2014. V. 511. № 7510. P. 421.
  139. *Panula P., Chen Y.-C., Priyadarshini M. et al.* The comparative neuroanatomy and neurochemistry of zebrafish CNS systems of relevance to human neuropsychiatric diseases // *Neurobiology of disease*. 2010. V. 40. № 1. P. 46.
  140. *Panula P., Sallinen V., Sundvik M. et al.* Modulatory neurotransmitter systems and behavior: towards zebrafish models of neurodegenerative diseases // *Zebrafish*. 2006. V. 3. № 2. P. 235.
  141. *Papke R.L., Ono F., Stokes C., Urban J.M., Boyd R.T.* The nicotinic acetylcholine receptors of zebrafish and an evaluation of pharmacological tools used for their study // *Biochemical pharmacology*. 2012. V. 84. № 3. P. 352.
  142. *Park E., Lee Y., Kim Y., Lee C.-J.* Cholinergic modulation of neural activity in the telencephalon of the zebrafish // *Neuroscience letters*. 2008. V. 439. № 1. P. 79.
  143. *Parker M.O., Evans A.M.D., Brock A.J., Combe F.J., Teh M.T., Brennan C.H.* Moderate alcohol exposure during early brain development increases stimulus-response habits in adulthood // *Addiction biology*. 2016. V. 21. № 1. P. 49.

144. *Parker M.O., Millington M.E., Combe F.J., Brennan C.H.* Development and implementation of a three-choice serial reaction time task for zebrafish (*Danio rerio*) // *Behav. brain research*. 2012. V. 227. № 1. P. 73.
145. *Pavlidis M., Theodoridi A., Tsalafouta A.* Neuroendocrine regulation of the stress response in adult zebrafish, *Danio rerio* // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2015. V. 60. P. 121.
146. *Peitsaro N., Sundvik M., Anichtchik O.V., Kaslin J., Panula P.* Identification of zebrafish histamine H1, H2 and H3 receptors and effects of histaminergic ligands on behavior // *Biochemical pharmacology*. 2007. V. 73. № 8. P. 1205.
147. *Pérez-Escudero A., Vicente-Page J., Hinz R.C., Arganda S., De Polavieja G.G.* idTracker: tracking individuals in a group by automatic identification of unmarked animals // *Nature methods*. 2014. V. 11. № 7. P. 743.
148. *Petzold A.M., Balciunas D., Sivasubbu S. et al.* Nicotine response genetics in the zebrafish // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009. V. 106. № 44. P. 18662.
149. *Piato A.L., Capiotti K.M., Tamborski A.R. et al.* Unpredictable chronic stress model in zebrafish (*Danio rerio*): behavioral and physiological responses // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2011. V. 35. № 2. P. 561.
150. *Pittman J.T., Lott C.S.* Startle response memory and hippocampal changes in adult zebrafish pharmacologically-induced to exhibit anxiety/depression-like behaviors // *Physiology & behavior*. 2014. V. 123. P. 174.
151. *Poon K.L., Richardson M., Lam C.S., Khoo H.E., Korzh V.* Expression pattern of neuronal nitric oxide synthase in embryonic zebrafish // *Gene Expression Patterns*. 2003. V. 3. № 4. P. 463.
152. *Porsolt R.D.* Animal models of depression: utility for transgenic research // *Reviews in the Neurosciences*. 2000. V. 11. № 1. P. 53.
153. *Portavella M., Torres B., Salas C.* Avoidance response in goldfish: emotional and temporal involvement of medial and lateral telencephalic pallium // *Journal of Neuroscience*. 2004. V. 24. № 9. P. 2335.
154. *Postlethwait J.H., Yan Y.-L., Gates M.A. et al.* Vertebrate genome evolution and the zebrafish gene map // *Nature genetics*. 1998. V. 18. № 4. P. 345.
155. *Purushothaman S., Saxena S., Meghah V. et al.* Proteomic and gene expression analysis of zebrafish brain undergoing continuous light/dark stress // *Journal of sleep research*. 2015. V. 24. № 4. P. 458
156. *Rambo C.L., Mocelin R., Marcon M. et al.* Gender differences in aggression and cortisol levels in zebrafish subjected to unpredictable chronic stress // *Physiology & behavior*. 2017. V. 171. P. 50.
157. *Rankin C.H., Abrams T., Barry R.J., Bhatnagar S. et al.* Habituation revisited: an updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation // *Neurobiology of learning and memory*. 2009. V. 92. № 2. P. 135.
158. *Rauch S.L., Whalen P.J., Shin L.M. et al.* Exaggerated amygdala response to masked facial stimuli in post-traumatic stress disorder: a functional MRI study // *Biological psychiatry*. 2000. V. 47. № 9. P. 769.
159. *Renier C., Faraco J.H., Bourgin P. et al.* Genomic and functional conservation of sedative-hypnotic targets in the zebrafish // *Pharmacogenetics and genomics*. 2007. V. 17. № 4. P. 237.
160. *Richendrfer H., Pelkowski S., Colwill R., Creton R.* On the edge: pharmacological evidence for anxiety-related behavior in zebrafish larvae // *Behav. brain research*. 2012. V. 228. № 1. P. 99.
161. *Richetti S., Blank M., Capiotti K., Piato A., Bogo M., Vianna M. et al.* Quercetin and rutin prevent scopolamine-induced memory impairment in zebrafish // *Behav. Brain Research*. 2011. V. 217. № 1. P. 10.
162. *Rico E., Rosemberg D., Seibt K., Capiotti K., Da Silva R., Bonan C.* Zebrafish neurotransmitter systems as potential pharmacological and toxicological targets // *Neurotoxicology and teratology*. 2011. V. 33. № 6. P. 608.
163. *Rico E.P., de Oliveira D.L., Rosemberg D.B. et al.* Expression and functional analysis of Na<sup>+</sup>-dependent glutamate transporters from zebrafish brain // *Brain research bulletin*. 2010. V. 81. № 4–5. P. 517.
164. *Rink E., Guo S.* The too few mutant selectively affects subgroups of monoaminergic neurons in the zebrafish forebrain // *Neuroscience*. 2004. V. 127. № 1. P. 147.
165. *Rosemberg D.B., Braga M.M., Rico E.P. et al.* Behavioral effects of taurine pretreatment in zebrafish acutely exposed to ethanol // *Neuropharmacology*. 2012. V. 63. № 4. P. 613.
166. *Ruuskanen J.O., Xhaard H., Marjamäki A. et al.* Identification of duplicated fourth  $\alpha$ 2-adrenergic receptor subtype by cloning and mapping of five receptor genes in zebrafish // *Molecular biology and evolution*. 2004. V. 21. № 1. P. 14.
167. *Saverino C., Gerlai R.* The social zebrafish: behavioral responses to conspecific, heterospecific, and computer animated fish // *Behav. brain research*. 2008. V. 191. № 1. P. 77.
168. *Schneider H., Fritzky, Williams J. et al.* Cloning and expression of a zebrafish 5-HT<sub>2C</sub> receptor gene // *Gene*. 2012. V. 502. № 2. P. 108.
169. *Seibt K.J., da Luz Oliveira R., Bogo M.R., Senger M.R., Bonan C.D.* Investigation into effects of antipsychotics on ectonucleotidase and adenosine deaminase in zebrafish brain // *Fish physiology and biochemistry*. 2015. V. 41. № 6. P. 1383.
170. *Seibt K.J., da Luz Oliveira R., Zimmermann F.F. et al.* Antipsychotic drugs prevent the motor hyperactivity induced by psychotomimetic MK-801 in zebrafish (*Danio rerio*) // *Behav. brain research*. 2010. V. 214. № 2. P. 417.
171. *Seibt K.J., Piato A.L., da Luz Oliveira R., Capiotti K.M., Vianna M.R., Bonan C.D.* Antipsychotic drugs reverse MK-801-induced cognitive and social interaction deficits in zebrafish (*Danio rerio*) // *Behav. brain research*. 2011. V. 224. № 1. P. 135.
172. *Seligman M.E., Beagley G.* Learned helplessness in the rat // *J. of comparative and physiological psychology*. 1975. V. 88. № 2. P. 534.
173. *Seligman M.E., Rosellini R.A., Kozak M.J.* Learned helplessness in the rat: time course, immunization, and reversibility // *J. of comparative and physiological psychology*. 1975. V. 88. № 2. P. 542.



174. *Sessa A.K., White R., Houvras Y. et al.* The effect of a depth gradient on the mating behavior, oviposition site preference, and embryo production in the zebrafish, *Danio rerio* // *Zebrafish*. 2008. V. 5. № 4. P. 335.
175. *Shin L.M., Rauch S.L., Pitman R.K.* Amygdala, medial prefrontal cortex, and hippocampal function in PTSD // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006. V. 1071. № 1. P. 67.
176. *Smith S.M., Vale W.W.* The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress // *Dialogues in clinical neuroscience*. 2022.
177. *Spence R., Fatema M., Ellis S., Ahmed Z., Smith C.* Diet, growth and recruitment of wild zebrafish in Bangladesh // *J. of Fish Biology*. 2007. V. 71. № 1. P. 304.
178. *Spence R., Fatema M., Reichard M. et al.* The distribution and habitat preferences of the zebrafish in Bangladesh // *J. of fish biology*. 2006. V. 69. № 5. P. 1435.
179. *Spence R., Gerlach G., Lawrence C., Smith C.* The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio* // *Biological reviews*. 2008. V. 83. № 1. P. 13
180. *Spence R., Smith C.* Mating preference of female zebrafish, *Danio rerio*, in relation to male dominance // *Behavioral Ecology*. 2006. V. 17. № 5. P. 779.
181. *Stewart A., Gaikwad S., Kyzar E., Green J., Roth A., Kalueff A.V.* Modeling anxiety using adult zebrafish: a conceptual review // *Neuropharmacology*. 2012. V. 62. № 1. P. 135.
182. *Stewart A., Riehl R., Wong K. et al.* Behavioral effects of MDMA ("Ecstasy") on adult zebrafish // *Behavioural pharmacology*. 2011. V. 22. № 3. P. 275.
183. *Stewart A.M., Braubach O., Spitsbergen J., Gerlai R., Kalueff A.V.* Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside // *Trends in neurosciences*. 2014. V. 37. № 5. P. 264
184. *Stewart A.M., Gerlai R., Kalueff A.V.* Developing high-ER-throughput zebrafish screens for in-vivo CNS drug discovery // *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2015. V. 9. P. 14.
185. *Stewart A.M., Grieco F., Tegelenbosch R.A. et al.* A novel 3D method of locomotor analysis in adult zebrafish: Implications for automated detection of CNS drug-evoked phenotypes // *Journal of neuroscience methods*. 2015. V. 255. P. 66.
186. *Strüber N., Strüber D., Roth G.* Impact of early adversity on glucocorticoid regulation and later mental disorders // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2014. V. 38. P. 17.
187. *Sundvik M., Panula P.* Organization of the histaminergic system in adult zebrafish (*Danio rerio*) brain: neuron number, location, and cotransmitters // *J. of Comparative Neurology*. 2012. V. 520. № 17. P. 3827.
188. *Swain H.A., Sigstad C., Scalzo F.M.* Effects of dizocilpine (MK-801) on circling behavior, swimming activity, and place preference in zebrafish (*Danio rerio*) // *Neurotoxicology and teratology*. 2004. V. 26. № 6. P. 725.
189. *Tay T.L., Ronneberger O., Ryu S., Nitschke R., Driever W.* Comprehensive catecholaminergic projectome analysis reveals single-neuron integration of zebrafish ascending and descending dopaminergic systems // *Nature communications*. 2011. V. 2. № 1. P. 1.
190. *Thompson R.F., Spencer W.A.* Habituation: a model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior // *Psychological review*. 1966. V. 73. № 1. P. 16.
191. *Tolman E.C., Honzik C.H.* Introduction and removal of reward, and maze performance in rats // *Univers. of California public. in psychology*. 1930.
192. *Tran S., Chatterjee D., Gerlai R.* An integrative analysis of ethanol tolerance and withdrawal in zebrafish (*Danio rerio*) // *Behavioural brain research*. 2015. V. 276. P. 161.
193. *Tran S., Gerlai R.* Individual differences in activity levels in zebrafish (*Danio rerio*) // *Behavioural brain research*. 2013. V. 257. P. 224.
194. *Tran S., Gerlai R.* Time-course of behavioural changes induced by ethanol in zebrafish (*Danio rerio*) // *Behav. brain research*. 2013. V. 252. P. 204.
195. *Truong L., Mandrell D., Mandrell R., Simonich M., Tanguay R.L.* A rapid throughput approach identifies cognitive deficits in adult zebrafish from developmental exposure to polybrominated flame retardants // *Neurotoxicology*. 2014. V. 43. P. 134.
196. *Uchida D., Yamashita M., Kitano T., Iguchi T.* Oocyte apoptosis during the transition from ovary-like tissue to testes during sex differentiation of juvenile zebrafish // *Journal of Experimental Biology*. 2002. V. 205. № 6. P. 711.
197. *Uchida D., Yamashita M., Kitano T., Iguchi T.* An aromatase inhibitor or high water temperature induce oocyte apoptosis and depletion of P450 aromatase activity in the gonads of genetic female zebrafish during sex-reversal // *Comparative Biochemistry and Physiology Part A. P. Molecular & Integrative Physiology*. 2004. V. 137. № 1. P. 11.
198. *Van Eeden J., Cuppen E.* Genetic variation in the zebrafish. 2006.
199. *Vatine G., Vallone D., Gothilf Y., Foulkes N.S.* It's time to swim! Zebrafish and the circadian clock // *FEBS letters*. 2011. V. 585. № 10. P. 1485.
200. *Volgin A.D., Yakovlev O.A., Demin K.A. et al.* Zebrafish models for personalized psychiatry: insights from individual, strain and sex differences, and modeling gene x environment interactions // *Journal of neuroscience research*. 2019. V. 97. № 4. P. 402.
201. *Von Hofsten J., Olsson P.-E.* Zebrafish sex determination and differentiation: involvement of FTZ-F1 genes // *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2005. V. 3. № 1. P. 1.
202. *Von Trotha J.W., Vernier P., Bally-Cuif L.* Emotions and motivated behavior converge on an amygdala-like structure in the zebrafish // *European Journal of Neuroscience*. 2014. V. 40. № 9. P. 3302.
203. *Wahbeh H., Kishiyama S.S., Zajdel D., Oken B.S.* Salivary cortisol awakening response in mild Alzheimer disease, caregivers, and noncaregivers // *Alzheimer Disease & Associated Disorders*. 2008. V. 22. № 2. P. 181.
204. *Wang H.* Comparative analysis of period genes in teleost fish genomes // *Journal of molecular evolution*. 2008. V. 67. № 1. P. 29.
205. *Wang Y., Li S., Liu W. et al.* Vesicular monoamine transporter 2 (*Vmat2*) knockdown elicits anxiety-like

- behavior in zebrafish // Biochemical and biophysical research communications. 2016. V. 470. № 4. P. 792.
206. Wang Y., Takai R., Yoshioka H., Shirabe K. Characterization and expression of serotonin transporter genes in zebrafish // The Tohoku journal of experimental medicine. 2006. V. 208. № 3. P. 267.
207. Whiteley A.R., Bhat A., Martins E.P. et al. Population genomics of wild and laboratory zebrafish (*Danio rerio*) // Molecular ecology. 2011. V. 20. № 20. P. 4259.
208. Winger G., Woods J.H., Galuska C.M., Wade-Galuska T. Behavioral perspectives on the neuroscience of drug addiction // J. of the Experimental Analysis of Behavior. 2005. V. 84. № 3. P. 667.
209. Winter M.J., Redfern W.S., Hayfield A.J., Owen S.F., Valentin J.-P., Hutchinson T.H. Validation of a larval zebrafish locomotor assay for assessing the seizure liability of early-stage development drugs // J. of pharmacological and toxicological methods. 2008. V. 57. № 3. P. 176.
210. Yamamoto K., Ruuskanen J.O., Wullmann M.F., Vernier P. Two tyrosine hydroxylase genes in vertebrates: new dopaminergic territories revealed in the zebrafish brain // Molecular and Cellular Neuroscience. 2010. V. 43. № 4. P. 394.
211. Zhou Q.-G., Zhu L.-J., Chen C. et al. Hippocampal neuronal nitric oxide synthase mediates the stress-related depressive behaviors of glucocorticoids by down-regulating glucocorticoid receptor // Journal of Neuroscience. 2011. V. 31. № 21. P. 7579.
212. Ziv L., Muto A., Schoonheim P.J. et al. An affective disorder in zebrafish with mutation of the glucocorticoid receptor // Molecular psychiatry. 2013. V. 18. № 6. P. 681.

## Zebrafish as a Promising Model in Translational Neurobiology and Biomedicine

T. O. Kolesnikova<sup>1, \*</sup>, N. P. Ilyin<sup>2</sup>, M. M. Kotova<sup>1</sup>, and A. V. Kaluev<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Neurobiology Department, Scientific Center of Genetics and Life Sciences, Sirius University of Science and Technology, Sochi, 354340 Russia

<sup>2</sup>Almazov Medical Research Centre, Institute of Experimental Medicine, Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, 197341 Russia

<sup>3</sup>Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

\*e-mail: philimontani@yandex.ru

**Abstract**—High prevalence of the central nervous system disorders necessitates novel methods and approaches for their pharmacological correction. Traditionally used rodent models are limited by high costs of research, complex maintenance and care, and long development. The use of alternative, aquatic model organisms, such as the zebrafish (*Danio rerio*), in translational neuroscience and medicine allows for fast efficient experimentation with easy maintenance, manipulations, and rapid development. Zebrafish are also sensitive to major classes of physiologically active agents, which makes this model indispensable for preclinical studies of a wide range of small molecules. The similarity of neurochemical systems, the presence of major neurotransmitters, a high degree of genetic and physiological homology with humans, the availability of both larval and adult fish models, and embryonic transparency provide multiple possibilities for using this organism to model CNS pathologies and its genetic and environmental causes.

**Keywords:** Zebrafish, *Danio rerio*, neurobiology, model organism, translational medicine