

Статья принята в печать в журнал «Обзоры клинической фармакологии и лекарственной терапии» 20 ноября 2021 года, главным редактором, профессором, д.м.н. П.Д. Шабановым.

Моделирование депрессии на зебраданио

2021 г. Д.С. Галстян^{1,2}, Т.О. Колесникова³,
Ю.М. Косицын¹, К.Н. Забегалов³, М.А. Губайдуллина³, Г.О. Маслов^{3,5}
К.А. Демин^{1,3,4}, С.Л. Хацко⁵, А.В. Калуев^{1,3,4,5,6,7,8}*

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³Научно-технологический университет “Сириус”, Сочи, Россия

⁴Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова,
Санкт-Петербург, Россия

⁵Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

⁶Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁷Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины, Новосибирск, Россия

⁸Московский физико-технический институт, Москва, Россия

* avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию xx.xx.2021 г.

После доработки xx.xx.2021 г.

Принята к публикации xx.xx.2021 г.

Аннотация.

Депрессия – широко распространенное серьезное психическое расстройство, для которого характерны плохое настроение, ангедония, утомляемость, снижение внимания, суицидальность и психомоторная заторможенность, сопровождающиеся нейроэндокринными и молекулярными нарушениями. Рыбы зебраданио, имея схожие с человеком нейроэндокринные и нейротрансмитерные системы, а также высокую генетическую гомологию, становятся популярной моделью для моделирования депрессивно-подобных состояний. На сегодняшний день разработаны и активно применяются различные поведенческие, фармакологические и генетические модели депрессии на зебраданио, рассмотренные в настоящей статье.

Abstract.

Depression is a widespread, severely debilitating mental disorder characterized by low mood, anhedonia, fatigue, decreased attention, suicidality and psychomotor retardation, accompanied by neuroendocrine and molecular disorders. Zebrafish have neuroendocrine and neurotransmitter systems similar to humans, as well as high genetic homology, and are rapidly

becoming popular model organisms for modeling depressive-like conditions. Here, we discuss modern behavioral, pharmacological and genetic models of depression in zebrafish, their methodological applications and translational implications.

Ключевые слова: зебраданио, депрессия, хронический стресс, резерпин, отчаяние.

Keywords: zebrafish, depression, chronic stress, reserpine, despair.

Введение: моделирование депрессии на зебраданио

Депрессия (depression) - широко распространенное серьезное психическое расстройство, для которого характерны плохое настроение, ангедония, утомляемость, снижение внимания, суицидальность и психомоторная заторможенность, сопровождающиеся нейроэндокринными нарушениями (1, 2).

Большое депрессивное расстройство (БДР, major depression) представляет собой сложное заболевание, которое имеет в своей основе как генетические причины, так и индуцируется факторами окружающей среды (3, 4). У пациентов с БДР нарушены катехоламины (серотонин, дофамин и норадреналин), глутамат и ГАМК. В клинической практике против БДР наиболее эффективны антидепрессанты-селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС), трициклические антидепрессанты и ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО). Полиморфизм в генах переносчиков дофамина (*DAT*) (5) и серотонина (*SERT*) (6) связан с высокой риском развития БДР.

Для БДР характерны депрессивное настроение, ангедония, колебания веса, бессонница, агитация, усталость, недостаток концентрации внимания и суицидальные мысли. Это расстройство имеет высокую коморбидность с другими психическими заболеваниями. У людей БДР обычно манифестирует в подростковом возрасте, причем у женщин это заболевание проявляется раньше, чем у мужчин. Дети родителей, страдающих депрессией, также чаще болеют БДР (генетический фактор), и почти у 90% людей с БДР случаются повторные эпизоды (6). Другими факторами БДР являются ожирение, низкая физическая активность, опыт психологической травмы в прошлом. БДР часто сочетается с другими психическими расстройствами, такими как расстройства тревожного спектра, расстройства личности, наркотическая зависимость. Нарушения в гипоталамус-гипофиз-надпочниковой оси также связаны с депрессией, а ее симптомы часто снимаются терапией СИОЗС. Кроме того, у пациентов с БДР наблюдается высокий уровень гормонов, связанных со стрессом (в т.ч. кортизола) и провоспалительных цитокинов, и пониженный уровень противовоспалительных цитокинов.

Биполярно-аффективное расстройство (БАР, bipolar depression) связано с чередованием депрессивных и маниакальных/гипоманиакальных состояний.

Биполярное расстройство I типа (БАР I) характеризуется одним или несколькими маниакальными эпизодами или смешанными эпизодами. Биполярное расстройство II типа (БАРII), в свою очередь, включает один гипоманиакальный эпизод с одним или несколькими депрессивными эпизодами (7). Факторами риска БАР являются ожирение, курение, злоупотребление наркотиками и неправильное питание. Как и БДР, БАР также имеет в своей основе генетические и экологические факторы. БАР является полигенным заболеванием, и хотя ни один ген не определяет его манифестацию, полиморфизмы в определенных генах (например, гене диацилглицеринкиназы) тесно связаны с развитием данного расстройства (8). Нарушения в работе иммунной системы и аномальные уровни нейротрофина также являются плохим прогностическим фактором. Фармакологическая терапия БАР включает стабилизаторы перепадов настроения (например, литий), противосудорожные средства (например, габапентин) и нейролептики (например, рисперидон). Нейрохимические механизмы БАР, которые труднее концептуализировать (по сравнению с БДР) из-за различий в период депрессивных и маниакальных/гипоманиакальных эпизодов, включают нарушения моноаминов и ГАМК (9, 10).

Таблица 1. Клинические симптомы депрессии и их отношение к моделям зебрании (11)

Table 1. Clinical symptoms of depression and their relevance to zebrafish models (11)

Клинические симптомы	Проявления у зебрании
Отчаяние	Низкая активность в тесте иммобилизации хвоста (11)
Ангедония (снижение удовольствия)	Снижение поощрительного поведения (например, обусловленное предпочтение места), гипофагия (12)
Вялость, усталость, потеря энергии	Гиполокомоция (уменьшение расстояния и скорости плавания) без смещения предпочтения верха/низа (1)
Понижение либидо	Понижение сексуальной активности, отсутствие нереста
Нарушение внимания и координации	Нарушение внимания и когнитивный дефицит
Социальная изоляция	Увеличенное среднее расстояние между рыбами (1)
Раздражительность, гнев, беспокойство	Гиперактивность и агрессивность
Моноамины	Снижение уровня серотонина, дофамина, норадреналина, связано с депрессией

Нейротрофический фактор мозга (BDNF)	BDNF модулирует многие моноаминергические (например, дофаминергические, серотонинергические) пути, более низкие уровни отмечаются в клинических случаях депрессии
Гормоны стресса	Повышенный уровень кортизола, кортикотропин-рилизинг-гормон и адренкортикотропный гормон (13)

Поведенческие модели

Поведенческие симптомы депрессивно-подобных состояний, моделируемых на зебраданио демонстрируют поразительное сходство как с клинической картиной (Табл. 1), так и с фенотипами грызунов. Например, депрессивно-подобное поведение можно оценить с помощью ряда тестов на зебраданио, включая тест нового аквариума, чувствительный к хроническому введению антидепрессантов (например, флуоксетина), которые также параллельно снижают тревожность. Примечательно, что зебраданио стабильно демонстрируют социальное поведение и четкую групповую иерархию, основанную на явных отношениях подчинения/доминирования. Иерархические социальные взаимодействия (например, когда самцы зебраданио постоянно проявляют агрессивное поведение), по-видимому, модулируются моноaminaми, при этом у подчиненных рыб-«проигравших» наблюдается более высокое соотношение 5-гидроксииндолуксусная кислота (основной метаболит серотонина)/серотонин. Уровни дофамина и серотонина повышены у доминирующих «победителей», что, возможно, может быть связано с фенотипами БДР.

Кроме того, в то время как социальная изоляция является признаком депрессии как у людей, так и у грызунов, фенотипы социальной изоляции у зебраданио дополнительно показывают их удобство для использования в качестве социальной модели определенных аспектов клинической депрессии. Депрессивно-подобное поведение у рыб можно оценить с помощью ряда более специфических тестов на зебраданио. Например, тест нового аквариума, традиционно используемый для оценки тревожности и двигательной активности зебраданио, может оценивать скорость и продолжительность плавания, беспорядочные движения, неподвижность (фризинг), а также время, проведенное в верхней и нижней половинах аквариума.

Примечательно, что трехмерный тест в водной среде (по сравнению с традиционными двумя измерениями в тестах на грызунах), предлагает значительное увеличение количества измеряемых показателей, многие из которых чувствительны к конкретным поведенческим профилям, и поэтому могут быть полезны для изучения депрессивно-подобных фенотипов. Более того, в новой среде зебраданио демонстрирует

заметную поведенческую чувствительность к широкому спектру фармакологических манипуляций, включая обычные клинические антидепрессанты (например, флуоксетин).

К поведенческим моделям депрессии моделям можно отнести парадигму хронического стресса и моделирование отчаяния. Хронический (непредсказуемый) стресс — это часто используемая парадигма, основанная на ежедневном воздействии различных стрессоров (феромон тревоги, присутствие хищника, изменение температурного режима, воздействие электрического тока, социальная изоляция и др.), которая может вызывать у зебраданио депрессивное поведение (14). Отчаяние же, являющееся признаком клинической депрессии, можно смоделировать в различных экспериментальных парадигмах «выученной беспомощности», подвергая животных воздействию неизбежных стрессоров (11). На основе данной парадигмы был разработан поведенческий тест для выявления депрессивного состояния отчаяния (11) - тест иммобилизации хвоста (ТИХ, zebrafish tail immobilization ZTI test), рассмотренный в отдельной статье сборника.

Фармакологические модели

Резерпин, как один из первых антипсихотиков, имеет долгую историю фармакологических исследований. Несмотря на очевидную эффективность в уменьшении симптомов БАР, резерпин снижает уровень дофамина, необратимо блокируя везикулярный переносчик моноаминов, при этом вызывая БДР. Хотя в клинической практике резерпин больше не применяют из-за серьезных побочных эффектов, этот препарат по-прежнему активно используется в доклинических исследованиях. У зебраданио воздействие резерпина вызывает долгосрочные депрессивные эффекты, включая замедление моторики, социальную изоляцию и повышенный уровень кортизола во всем теле. Интересно, что снижение моторики не наблюдается в течение нескольких дней после воздействия однократной дозы. Хроническое применение низких доз резерпина у зебраданио вызывает аналогичный гиполокомоторный и депрессивно-подобный фенотип, не влияя на их тревожность. В настоящее время резерпин является единственным препаратом, который вызывает депрессивные фенотипы у зебраданио.

В дополнение к моделированию БДР, различные пропсихотические и психостимулирующие препараты могут использоваться для вызова БАР-подобных фенотипов у зебраданио. Например, фенциклидин, дизоцилпин (МК-801) и кетамин являются антагонистами рецепторов NMDA, и их воздействие на зебраданио вызывает снижение тревожности и провоцирует круговое плавание. Плавание по кругу, в частности, может указывать на психозоподобное состояние, поскольку

галлюциногенные препараты, не являющиеся антагонистами NMDA (например, серотонинергические галлюциногены), по-видимому, не вызывают кружение у зебраданио. Интересно, что кетамин, обычно используемый в качестве общего анестетика, вызывает психотические и острые антидепрессивные эффекты у людей, одновременно снижая интенсивность проявлений тревожных фенотипов и понижая уровень кортизола во всем теле у зебраданио. В целом, фармакологические модели зебраданио позволяют удовлетворить запрос на новые направления исследований депрессии (Табл. 2).

Генетические модели

Эпидемиологические исследования показывают, что примерно 40–50% предрасположенности к депрессии обусловлено генетическими факторами (15). Поэтому, генетические модели депрессии зебраданио могут иметь отношение к реальной клинической картине (Табл. 3). Например, однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism - SNP) гена *P2RX7* у зебраданио, вероятно, опосредует предрасположенность к депрессии у людей (16) и может вызывать нарушение функции рецептора *P2X7 in vitro* (17). Также зебраданио с нокаутом в гене глюкокортикоидного рецептора *gr* (*s357*), демонстрируют повышенное стрессорное, тревожное и депрессивное поведение. Мутанты *gr* (*s357*) представляют модель с дисфункциональной эндокринной (у рыб - гипоталамо-гипофизарно-интерреналовой) осью, которая является распространенным фактором патологии БДР человека.

Таблица 2. Эффекты про- и антидепрессантных препаратов на зебраданио

Table 2. Effects of pro- and antidepressant drugs in zebrafish

Препараты	Эффекты	Описание фенотипа
Резерпин	Продепрессивный	Длительные моторные и социальные нарушения, повышение уровня кортизола (18)
Транс-2-фенилциклопропиламин	Продепрессивный	Апоптоз нейронов и гипомоторный фенотип (19)
Флуоксетин	Антидепрессивный	Анксиолитический фенотип, повышенный уровень серотонина, снижение уровня кортизола (20)
Пароксетин	Антидепрессивный	Повышение уровня серотонина и снижение спонтанную плавательную активность (20)
Пароксетин	Антидепрессивный	Повышение уровня серотонина и снижение спонтанной плавательной активности (20)
Амитриптилин	Антидепрессивный	Повышенный уровень серотонина (21)
Дезипрамин	Антидепрессивный	Анксиолитический фенотип (22)

Сходным образом ген *DISC1* является эволюционно консервативным у крыс, мышей и зебраданио представляет собой ключевой ген (один из многих), прочно связанных как с шизофренией, так и с БАП. В частности, нокдаун *Disc1* у зебраданио приводит к аномальной миграции клеток и снижению нейральной популяции в нервном гребне.

В целом, поскольку депрессия является сложным нейроповеденческим расстройством, только изучение патологических механизмов на разных видах, позволит соединить воедино эволюционную мозаику консервативных аспектов данной болезни. Значительную роль в этом процессе играют фармакологические, поведенческие и генетические модели депрессивных расстройств, описанные выше для зебраданио, раскрывая сложную триаду поведенческих, эмоциональных и когнитивных аспектов депрессии.

Таблица 3. Примеры генетические манипуляций при моделировании депрессии у зебраданио

Table 3. Examples of genetic models of zebrafish depression-like states

Манипуляции	Описание
Нокаут глюкокортикоидного рецептора <i>gr</i>	Повышенный стресс, тревожно- и депрессивно-подобное поведение (24)
SNP в гене <i>P2RX7</i>	Изменение сигналинга глутаматергической системы <i>in vitro</i> (25)
Нокаут гена петаксина	Фризинг и тревожно-подобное поведение (26)

Благодарности: Работа поддержана Госзаданием (проект 73026081) Санкт-Петербургскому Государственному Университету.

Литература

1. de Abreu MS, Friend AJ, Demin KA, Amstislavskaya TG, Bao W, Kalueff AV. Zebrafish models: do we have valid paradigms for depression? *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2018;94(Pt 2):16-22.

2. Ma L, Demin KA, Kolesnikova TO, Khatsko SL, Zhu X, Yuan X, et al. Animal inflammation-based models of depression and their application to drug discovery. *Expert Opin Drug Discov.* 2017;12(10):995-1009.
3. Venzala E, Garcia-Garcia AL, Elizalde N, Tordera RM. Social vs. environmental stress models of depression from a behavioural and neurochemical approach. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2013;23(7):697-708.
4. Rutter M. Commentary: Nature–nurture interplay in emotional disorders. *Journal of Child Psychology and Psychiatry.* 2003;44(7):934-44.
5. Haeffel GJ, Getchell M, Kuposov RA, Yrigollen CM, De Young CG, Klinteberg Ba, et al. Association between polymorphisms in the dopamine transporter gene and depression: evidence for a gene-environment interaction in a sample of juvenile detainees. *Psychological science.* 2008;19(1):62-9.
6. Risch N, Herrell R, Lehner T, Liang K-Y, Eaves L, Hoh J, et al. Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression: a meta-analysis. *Jama.* 2009;301(23):2462-71.
7. Association AP, Association AP. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5.* Arlington, VA. 2013.
8. Consortium IS, Purcell SM, Wray NR, Stone JL, Visscher PM, O'Donovan MC, Sullivan PF, Sklar P: Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature.* 2009;460(7256):748-52.
9. Vawter MP, Freed WJ, Kleinman JE. Neuropathology of bipolar disorder. *Biological psychiatry.* 2000;48(6):486-504.
10. Benes FM, Berretta S. GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2001;25(1):1-27.
11. Demin KA, Lakstygala AM, Chernysh MV, Krotova NA, Taranov AS, Ilyin NP, et al. The zebrafish tail immobilization (ZTI) test as a new tool to assess stress-related behavior and a potential screen for drugs affecting despair-like states. *J Neurosci Methods.* 2020;337:108637.
12. Nguyen M, Stewart AM, Kalueff AV. Aquatic blues: modeling depression and antidepressant action in zebrafish. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2014;55:26-39.
13. Fonseka TM, Wen XY, Foster JA, Kennedy SH. Zebrafish models of major depressive disorders. *J Neurosci Res.* 2016;94(1):3-14.
14. Demin KA, Lakstygala AM, Krotova NA, Masharsky A, Tagawa N, Chernysh MV, et al. Understanding complex dynamics of behavioral, neurochemical and transcriptomic changes induced by prolonged chronic unpredictable stress in zebrafish. *Sci Rep.* 2020;10(1):19981.
15. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron.* 2002;34(1):13-25.
16. Halmai Z, Dome P, Vereczkei A, Abdul-Rahman O, Szekely A, Gonda X, et al. Associations between depression severity and purinergic receptor P2RX7 gene polymorphisms. *J Affect Disord.* 2013;150(1):104-9.
17. Roger S, Mei Z-Z, Baldwin JM, Dong L, Bradley H, Baldwin SA, et al. Single nucleotide polymorphisms that were identified in affective mood disorders affect ATP-activated P2X7 receptor functions. *Journal of psychiatric research.* 2010;44(6):347-55.
18. Kyzar E, Stewart AM, Landsman S, Collins C, Gebhardt M, Robinson K, et al. Behavioral effects of bidirectional modulators of brain monoamines reserpine and d-amphetamine in zebrafish. *Brain Res.* 2013;1527:108-16.
19. Jie Z, Li T, Jia-Yun H, Qiu J, Ping-Yao Z, Houyan S. Trans-2-phenylcyclopropylamine induces nerve cells apoptosis in zebrafish mediated by depression of LSD1 activity. *Brain Res Bull.* 2009;80(1-2):79-84.

20. Airhart MJ, Lee DH, Wilson TD, Miller BE, Miller MN, Skalko RG. Movement disorders and neurochemical changes in zebrafish larvae after bath exposure to fluoxetine (PROZAC). *Neurotoxicol Teratol.* 2007;29(6):652-64.
21. Demin KA, Kolesnikova TO, Khatsko SL, Meshalkina DA, Efimova EV, Morzherin YY, et al. Acute effects of amitriptyline on adult zebrafish: Potential relevance to antidepressant drug screening and modeling human toxidromes. *Neurotoxicol Teratol.* 2017;62:27-33.
22. Sackerman J, Donegan JJ, Cunningham CS, Nguyen NN, Lawless K, Long A, et al. Zebrafish Behavior in Novel Environments: Effects of Acute Exposure to Anxiolytic Compounds and Choice of *Danio rerio* Line. *Int J Comp Psychol.* 2010;23(1):43-61.
23. Wen D, Liu A, Chen F, Yang J, Dai R. Validation of visualized transgenic zebrafish as a high throughput model to assay bradycardia related cardio toxicity risk candidates. *J Appl Toxicol.* 2012;32(10):834-42.
24. Griffiths BB, Schoonheim PJ, Ziv L, Voelker L, Baier H, Gahtan E. A zebrafish model of glucocorticoid resistance shows serotonergic modulation of the stress response. *Front Behav Neurosci.* 2012;6:68.
25. Roger S, Mei ZZ, Baldwin JM, Dong L, Bradley H, Baldwin SA, et al. Single nucleotide polymorphisms that were identified in affective mood disorders affect ATP-activated P2X7 receptor functions. *J Psychiatr Res.* 2010;44(6):347-55.
26. Ranft K, Dobrowolny H, Krell D, Bielau H, Bogerts B, Bernstein HG. Evidence for structural abnormalities of the human habenular complex in affective disorders but not in schizophrenia. *Psychol Med.* 2010;40(4):557-67.