

УДК 615.214.32

<https://doi.org/10.56871/RBR.2025.99.86.004>

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ АНКСИОЛИТИКОВ БЕНЗОДИАЗЕПИНОВОГО И НЕБЕНЗОДИАЗЕПИНОВОГО РЯДОВ У *Danio rerio*

© Виктор Андреевич Лебедев^{1, 3, 4}, Сарнг Саналович Пюрвеев^{1, 2}, Александр Сергеевич Девяшин¹,
Татьяна Евгеньевна Лебедева², Евгений Рудольфович Бычков¹, Андрей Юрьевич Юров²,
Иван Андреевич Балаганский¹, Андрей Андреевич Лебедев^{1, 3, 4}, Петр Дмитриевич Шабанов¹

¹ Институт экспериментальной медицины. 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, Российская Федерация

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2, Российская Федерация

³ Санкт-Петербургский государственный институт психологии и социальной работы. 199178, г. Санкт-Петербург, 12-я линия В.О., д. 13, лит. А, Российская Федерация

⁴ Санкт-Петербургский университет технологий управления и экономики. 190020, г. Санкт-Петербург, Лермонтовский пр., д. 44, лит. А, а/я 85, Российская Федерация

Контактная информация: Сарнг Саналович Пюрвеев — к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии СПбГПМУ. E-mail: dr.purveev@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-4467-2269> SPIN: 5915-9767

Для цитирования: Лебедев В.А., Пюрвеев С.С., Девяшин А.С., Лебедева Т.Е., Бычков Е.Р., Юров А.Ю., Балаганский И.А., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Сравнительная оценка эффектов анксиолитиков бензодиазепинового и небензодиазепинового рядов у *Danio rerio*. Российские биомедицинские исследования. 2025;10(3):35–43. <https://doi.org/10.56871/RBR.2025.99.86.004>

Поступила: 19.05.2025

Одобрена: 01.07.2025

Принята к печати: 16.09.2025

Резюме. Актуальность. Одной из наиболее перспективных моделей для проведения исследований функций головного мозга в норме и при патологии является *Danio rerio*. Ранее у *Danio rerio* показано центральное действие анксиолитиков бензодиазепинового ряда. В то же время исследование анксиолитиков небензодиазепинового ряда не получило должного развития. **Цель** — провести сравнительную оценку эффектов анксиолитиков бензодиазепинового и небензодиазепинового рядов у *Danio rerio*. **Материалы и методы.** Использовали тест стресса новизны: рыбу помещали сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или водой), затем в просмотрный аквариум на 6 минут, где автоматически регистрировали траекторию движения, длину пути, число перемещений в верхнюю часть аквариума, время пребывания в нижней части аквариума, число и время паттерна «фризинг». Использовали бензодиазепиновые транквилизаторы диазепам, тофизопам и небензодиазепиновые транквилизаторы на примере гидроксизина в двух дозах: 0,5 мг/л и 1 мг/л. **Результаты.** В тесте новизны *Danio rerio* большую часть времени находились в нижней части просмотрного аквариума и совершали небольшие перемещения. При этом часто наблюдали фризинг, число и время которого за опыт были достаточно велики, как и время пребывания рыбы в нижней части аквариума. Динамика времени пребывания рыбы в нижнем и верхнем отсеках практически не изменялась. Введение транквилизаторов вызывало типичный анксиолитический эффект: подъем в верхнюю часть аквариума, снижение числа и времени паттерна «фризинг», снижение времени пребывания рыбы в нижней части аквариума, повышения числа перемещений в верхнюю часть аквариума. В то же время длина траектории после введения бензодиазепиновых транквилизаторов не изменялась или снижалась (тофизопам), а после введения небензодиазепиновых транквилизаторов (гидроксидин) повышалась. Картина траектории движения рыб также отличалась: небензодиазепиновые транквилизаторы вызывали равномерное плавание практически по всем секторам аквариума, в отличие от действия бензодиазепиновых транквилизаторов. **Заключение.** Таким образом, введение исследуемых транквилизаторов у *Danio rerio* вызывает типичный анксиолитический эффект. В то же время длина и картина траектории у рыб значительно отличается при сравнительной оценке эффектов анксиолитиков бензодиазепинового и небензодиазепинового рядов. Сделан вывод о высокой селективности теста новизны у *Danio rerio* для проведения доклинических исследований, связанных с психиатрическими и неврологическими расстройствами.

Ключевые слова: *Danio rerio*, поведение, стресс новизны, транквилизаторы



<https://doi.org/10.56871/RBR.2025.99.86.004>

COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTS OF ANXIOLYTICS OF THE BENZODIAZEPINE AND NON-BENZODIAZEPINE CLASSES IN *DANIO RERIO*

© Victor A. Lebedev^{1, 3, 4}, Sarng S. Pyurveev^{1, 2}, Alexander S. Devyashin¹, Tatyana E. Lebedeva², Evgeny R. Bychkov¹, Andrey Yu. Yurov², Ivan A. Balaganskii¹, Andrey A. Lebedev^{1, 3, 4}, Petr D. Shabanov¹

¹ Institute of Experimental Medicine, 12 Academician Pavlov str., Saint Petersburg 197022 Russian Federation

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University. 2 Lithuania, Saint Petersburg 194100 Russian Federation

³ Saint Petersburg State Institute of Psychology and Social Work. 13 12th Line, V.O., Bldg. A, Saint Petersburg, 199178, Russian Federation

⁴ Saint Petersburg University of Management Technologies and Economics. 44 Lermontovskiy ave., Bldg. A, P.O. Box 85, Saint Petersburg, 190020, Russian Federation

Contact information: Sarng S. Pyurveev — Candidate of Medical Sciences, Assistant at the Department of Pathological Physiology with a course in immunopathology. E-mail: dr.purveev@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-4467-2269> SPIN: 5915-9767

For citation: Lebedev VA, Pyurveev SS, Devyashin AS, Lebedeva TE, Bychkov ER, Yurov AY, Balaganskii IA, Lebedev AA, Shabanov PD. Comparative evaluation of the effects of anxiolytics of the benzodiazepine and non-benzodiazepine classes in *Danio rerio*. Russian Biomedical Research. 2025;10(3):35–43. <https://doi.org/10.56871/RBR.2025.99.86.004>

Received: 19.05.2025

Revised: 01.07.2025

Accepted: 16.09.2025

Abstract. Introduction. *Danio rerio* represents one of the most promising animal models for studying normal and pathological brain functions. Previously, the central effects of benzodiazepine anxiolytics have been demonstrated in *Danio rerio*. However, studies investigating the effects of non-benzodiazepine anxiolytics have not been sufficiently developed. **Objective.** Comparative evaluation of the effects of benzodiazepine and non-benzodiazepine anxiolytics in *Danio rerio*. **Materials and methods.** A novel tank diving test (stress-induced novelty test) was employed. Fish were initially placed in a beaker containing a dissolved pharmacological substance (or water as control), and subsequently transferred to an observation aquarium for 6 minutes. Behavioral parameters such as trajectory, distance traveled, frequency of movements into the upper part of the aquarium, time spent in the lower part, and the frequency and duration of freezing episodes were automatically recorded. Benzodiazepine anxiolytics (diazepam, tofisopam) and the non-benzodiazepine anxiolytic hydroxyzine were used at two doses: 0.5 mg/L and 1 mg/L. **Results.** In the novel tank test, *Danio rerio* spent most of the time in the bottom region of the aquarium, showing limited movements with frequent freezing episodes. Both frequency and duration of freezing, as well as the time spent at the bottom of the aquarium, were significantly high throughout the test period, without notable temporal changes. Administration of anxiolytics produced a typical anxiolytic effect characterized by increased time spent in the upper region, reduced frequency and duration of freezing episodes, decreased time spent in the lower part of the tank, and increased number of movements into the upper aquarium region. However, the trajectory length after administration of benzodiazepine anxiolytics remained unchanged or decreased (tofisopam), whereas it increased after the administration of the non-benzodiazepine anxiolytic hydroxyzine. Furthermore, the swimming pattern differed significantly: non-benzodiazepine anxiolytics induced uniform swimming activity across all sectors of the aquarium compared to benzodiazepine anxiolytics. **Conclusion.** Administration of the tested anxiolytics in *Danio rerio* induced typical anxiolytic effects. Nevertheless, significant differences in trajectory length and swimming patterns were observed between benzodiazepine and non-benzodiazepine anxiolytics. The novel tank diving test in *Danio rerio* demonstrates high selectivity and appears suitable for preclinical studies related to psychiatric and neurological disorders.

Keywords: *Danio rerio*, behavior, novel tank test, anxiolytics



ВВЕДЕНИЕ

Доклинические исследования базируются на экспериментальных моделях. На протяжении многих лет для моделирования нарушений работы мозга человека использовались млекопитающие [1]. Недавние исследования свидетельствуют о быстром развитии видового состава животных при изучении действия фармакологических средств. Одной из наиболее перспективных для проведения исследований по изучению функций головного мозга является рыба *Danio rerio* [2, 3]. Функции ее переднего мозга включают сложные когнитивные способности, главным образом, благодаря развитию подкорковых нейронных цепей [4, 5]. *Danio rerio* обладают всеми основными нейротрансмиттерами, рецепторами и транспортерами, которые важны для лечения заболеваний мозга у человека [6]. Нейрохимические основы мозга во многом сходны в ряду позвоночных и предполагают моделирование поиска методов лечения и у низших таксономических групп [3]. Это позволяет рассматривать *Danio rerio* в качестве кандидатов для включения в протоколы доклинических исследований, связанных с психиатрическими и неврологическими расстройствами [1]. Существуют соответствующие примеры применения *Danio rerio* для моделирования аффективных расстройств [7], депрессии [8]. Показано действие анксиолитиков бензодиазепинового ряда у *Danio rerio* [9]. В то же время исследование анксиолитиков небензодиазепинового ряда не получило должного развития в изучении фармакологии у рыб.

Показано, что действие анксиолитиков бензодиазепинового ряда у *Danio rerio* вызывает повышение уровня гормонов стресса на примере кортизола [10]. Действие стресса на поведение у *Danio rerio* можно исследовать в ряде тестов, таких как свет–темнота [11], Т-образный лабиринт [12], «открытое поле» [13], стресс новизны [14]. Тест стресса новизны используется для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio* [14, 15]. При этом рыбы демонстрируют стабильные поведенческие ответы под действием стресса новизны [14]. Данный поведенческий тест основывается на инстинкте поиска защиты от незнакомой обстановки погружением на дно, фризингом (обездвиживанием или «примерживанием») и снижением двигательного (и исследовательского) поведения. После адаптации (акклиматизации) к новой обстановке двигательная активность увеличивается, уменьшается фризинг и увеличивается число переходов в верхнюю половину аквариума [16]. Подобное поведение традиционно анализируется в тесте «открытое поле» в исследованиях тревожности у грызунов [17]. В тесте новизны *Danio rerio* помещается сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или водой), а затем в небольшой просмотрный аквариум, где регистрируются двигательная активность, фризинг, число переходов в верхнюю половину аквариума и время нахождения в ней [18]. Для регистрации поведения *Danio rerio* применяют компьютерный анализ видеотрека, что, в свою очередь, позволяет более детально, с высокой точностью изучить эффекты фармакологических веществ [10]. Ранее нами

было показано анксиолитическое действие транквилизатора феназепама у *Danio rerio* [20, 21].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящей работы было проведение сравнительного фармакологического анализа действия анксиолитиков бензодиазепинового и небензодиазепинового рядов у *Danio rerio*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выбор животных. В работе использованы 204 половозрелые рыбы *Danio rerio* в возрасте 6–8 мес (фирма Аква Питер, дикий тип) после двух недель адаптации к аквариумам объемом 40 л, по 20–30 рыб в каждом при температуре воды 25–27 °С. Животных содержали в стандартных условиях светового режима (8.00–20.00) при температуре помещения 22±2 °С, кормили дважды в день стандартным кормом Tetramin tropical flakes.

Тест стресса новизны. Для экспериментов применяли просмотрный аквариум объемом 1,5 л, трапециевидной формы, 15×7 см, длиной 22 см в нижней и 28 см в верхней части аквариума. Этот тип аквариумов применяется для тестирования тревожно-фобических реакций у *Danio rerio* [15]. Трапециевидная форма аквариума позволяет минимизировать латеральные движения рыбки и свободно наблюдать за вертикальными и горизонтальными движениями. Поскольку данный поведенческий тест основывается главным образом на инстинкте поиска защиты от незнакомой обстановки погружением на дно [19], аквариум был разделен чертой на две равные части — верхнюю и нижнюю. Рыбку помещали сначала в мерный стакан водоизмещением 200 мл с растворенным фармакологическим веществом (или водой) на 5 мин, затем в предстартовый аквариум с водой (10×10×10 см) на 5 мин и далее в просмотрный аквариум на 6 мин, где регистрировали двигательную активность за опыт (длина трека рыбки), число переходов в верхнюю и нижнюю половины аквариума и время нахождения в них. Автоматически регистрировали число и время паттернов «фризинг» (обездвиживание или «примерживание») за опыт, которые обычно наблюдаются при стрессе новизны и отражают уровень тревожности животного. Поведение регистрировали автоматически с помощью системы Noldus Etho Vision XT7, позволяющей просматривать видеотреки рыбки. Система дает возможность как снимать показания в цифровом выражении, так и визуально контролировать видеотрек. Весь период наблюдения непрерывно регистрировался, при помощи программы шла запись траектории движения.

Фармакологические вещества. Для фармакологического анализа использовали бензодиазепиновые транквилизаторы Диазепам («Сибазон») ОАО «Дальхимфарм» 5 мг/мл в двух дозах — 0,5 и 1 мг/л, и Тофизопам (Грандаксин) EGIS Pharmaceuticals 50 мг в двух дозах — 0,5 и 1 мг/л. Для анализа использовали также небензодиазепиновые транквилизаторы



на примере Гидроксизина (Атаракс) UBC Pharma 25 мг в двух дозах — 0,5 и 1 мг/л.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование действия бензодиазепиновых транквилизаторов. Все исследуемые вещества применяли в двух дозах — 0,5 и 1 мг/л. Диазепам в дозе 0,5 мг/л в сравнении с контрольной группой достоверно отличался по показателю «число перемещений в верхнюю часть аквариума» $12,8 \pm 0,5$ ($p \leq 0,05$) и $5,8 \pm 1,2$ соответственно. Диазепам в дозе 1 мг/л показал статистически значимые различия с контрольной группой в количестве фризингов $21,2 \pm 1,3$ ($p \leq 0,05$) и $47,8 \pm 4,9$, времени фризинга $10,6 \pm 0,7$ с ($p \leq 0,05$) и $23,9 \pm 2,5$ с, количестве перемещений в верхнюю часть аквариума $19,4 \pm 1,1$ ($p \leq 0,05$) и $5,8 \pm 1,2$ соответственно.

Тофизопам в дозе 0,5 мг/л показал статистически значимые различия с контрольной группой во всех показателях, количество фризинга снизилось с $47,8 \pm 4,9$ до $23 \pm 3,6$ ($p \leq 0,05$), время фризинга уменьшилось с $23,9 \pm 2,5$ с до $11,5 \pm 1,8$ с ($p \leq 0,05$), длина траектории сократилась с $1365 \pm 57,6$ см до $1057 \pm 9,9$ см ($p \leq 0,05$), проведенное время в нижней части аквариума уменьшилось с $347,7 \pm 9,3$ с до $263 \pm 3,2$ с ($p \leq 0,05$), а количество перемещений в верхнюю часть аквариума увеличилось с $5,8 \pm 1,2$ до $35 \pm 2,7$ ($p \leq 0,05$). В дозе 1 мг/л Тофизопам в сравнении с контрольной группой статистически значимо различался только в показателе длина траектории $776 \pm 65,9$ см ($p \leq 0,05$) и $1365 \pm 57,6$ см соответственно. Вышеуказанные данные представлены в таблице 1.

Исследование действия небензодиазепиновых транквилизаторов. В опытах использовали небензодиазепиновый транквилизатор Гидроксизин, который в дозе 0,5 мг/л в сравнении с контрольной группой показал статистически значимые различия по всем сравниваемым критериям. Число фризингов уменьшилось с $47,8 \pm 4,9$ до $24,5 \pm 5,6$ ($p \leq 0,05$), время фризинга снизилось с $23,9 \pm 2,5$ с до $12,2 \pm 2,8$ с ($p \leq 0,05$), длина траектории увеличилась с $1365 \pm 57,6$ см до $1867,4 \pm 118,2$ см ($p \leq 0,05$), время, проведенное в нижней части аквариума, снизилось с $347,7 \pm 9,3$ с до $260,7 \pm 15,4$ с ($p \leq 0,05$), а количество переходов из нижней части аквариума в верхнюю часть увеличилось с $5,8 \pm 1,2$ до $51,6 \pm 7$ ($p \leq 0,05$).

Гидроксизин в дозе 1 мг/л значимо отличался от контрольной группы только в показателе «время в нижней части аквариума». Здесь на фоне введения Гидроксизина рыба уменьшила пребывание в нижней части аквариума с $347,7 \pm 9,3$ с в контрольной группе до $295,4 \pm 10,8$ с ($p \leq 0,05$) в группе Гидроксизина 1 мг/л, а также увеличила число переходов из нижней части аквариума в верхнюю его часть на фоне введения Гидроксизина 1 мг/л — $27 \pm 6,5$ раз ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой — $5,8 \pm 1,2$ раз. Вышеуказанные данные представлены в таблице 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящие исследования показали, что реакция на новизну помещения в просмотровый аквариум у *Danio rerio* имеет типичную картину паттернов поведения. В ответ на незнакомую обстановку просмотрового аквариума рыба реагировала погружением на дно, фризингом (обездвиживанием или

Таблица 1

Влияние бензодиазепиновых транквилизаторов на поведение *Danio rerio* в тесте новизны

Table 1

Effects of benzodiazepine tranquilizers on the behavior of *Danio rerio* in the novelty test

Группа / Group	Количество фризингов, n / Number of freezing episodes, n	Время фризинга, с / Freezing duration, s	Длина траектории, см / Trajectory length, cm	Время в нижней части аквариума, с / Time spent in bottom of aquarium, s	Количество перемещений в верхнюю часть аквариума, n / Number of transitions to upper part of aquarium, n
Контроль / Control	$47,8 \pm 4,9$	$23,9 \pm 2,5$	$1365 \pm 57,6$	$347,7 \pm 9,3$	$5,8 \pm 1,2$
Диазепам 0,5 мг / Diazepam 0.5 mg	$33,2 \pm 2,2$	$16,6 \pm 1,1$	$1192,2 \pm 27,7$	$328 \pm 1,6$	$12,8 \pm 0,5^*$
Диазепам 1 мг / Diazepam 1 mg	$21,2 \pm 1,3^*$	$10,6 \pm 0,7^*$	$1468,8 \pm 15,3$	$319,8 \pm 2,6$	$19,4 \pm 1,1^*$
Тофизопам 0,5 мг / Tofisopam 0.5 mg	$23 \pm 3,6^*$	$11,5 \pm 1,8^*$	$1057 \pm 9,9^*$	$263 \pm 3,2^*$	$35 \pm 2,7^*$
Тофизопам 1 мг / Tofisopam 1 mg	$34 \pm 2,4$	$17 \pm 1,2$	$776 \pm 65,9^*$	$330,5 \pm 6,6$	$12,6 \pm 2,5^*$

* $p \leq 0,05$ — относительно группы контроля, $n=10$ / $p \leq 0,05$ —relative to the control group, $n=10$.



Таблица 2

Влияние небензодиазепинового транквилизатора Гидроксизина на поведение *Danio rerio* в тесте новизны

Table 2

Effects of the non-benzodiazepine tranquilizer hydroxyzine on the behavior of *Danio rerio* in the novelty test

Группа / Group	Количество фризингов, n / Number of freezing episodes, n	Время фризинга, с / Freezing duration, s	Длина траектории, см / Trajectory length, cm	Время в нижней части аквариума, с / Time spent in bottom of aquarium, s	Количество перемещений в верхнюю часть аквариума, n / Number of transitions to upper part of aquarium, n
Контроль / Control	47,8±4,9	23,9±2,5	1365±57,6	347,7±9,3	5,8±1,2
Гидроксизин 0,5 мг / Hydroxyzine 0.5 mg	24,5±5,6*	12,2±2,8*	1867,4±118,2*	260,7±15,4*	51,6±7*
Гидроксизин 1 мг / Hydroxyzine 1 mg	36,4±7,5	18,2±3,7	1449±88,1	295,4±10,8*	27±6,5*

* p ≤ 0,05 — относительно группы контроля, n=10. / p ≤ 0,05 —relative to the control group, n=10.

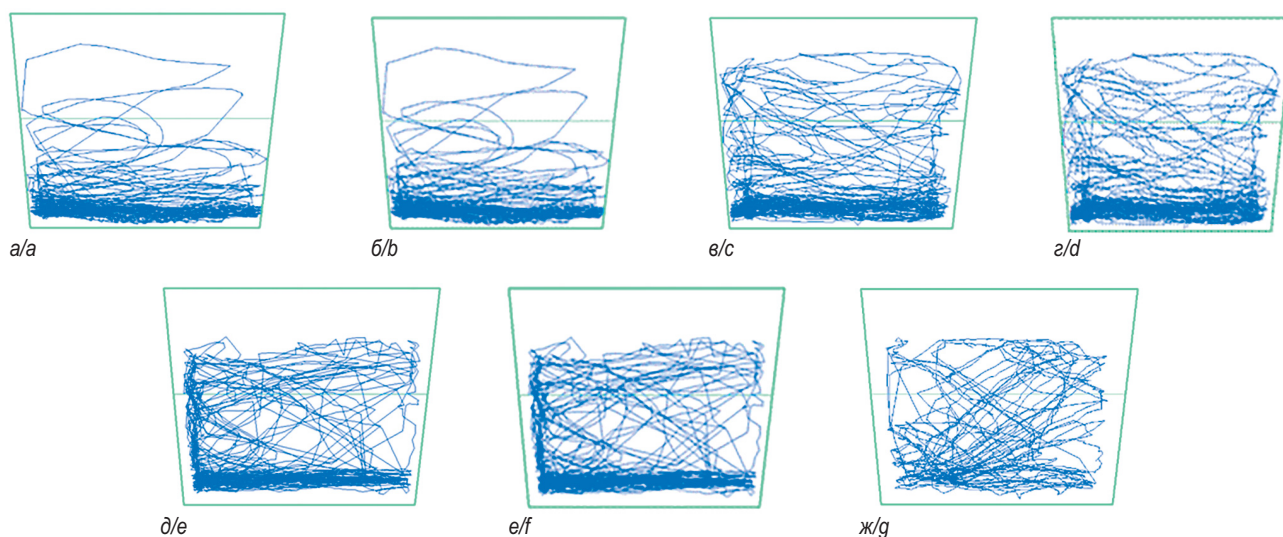


Рис. 1. Траектория рыбы в тесте новизны у контрольной группы (а); применении Диазепама в дозе 0,5 мг/л (б); при применении Диазепама в дозе 1 мг/л (в); при применении Тофизопама в дозе 0,5 мг/л (г); при применении Тофизопама в дозе 1 мг/л (д); при применении Гидроксизина в дозе 0,5 мг/л (е); при применении Гидроксизина в дозе 1 мг/л (ж)

Fig. 1. Fish trajectory in the novelty test: control group (a); after administration of Diazepam at a dose of 0.5 mg/L (b); after administration of Diazepam at a dose of 1 mg/L (c); after administration of Tofisopam at a dose of 0.5 mg/L (d); after administration of Tofisopam at a dose of 1 mg/L (e); after administration of Hydroxyzine at a dose of 0.5 mg/L (f); after administration of Hydroxyzine at a dose of 1 mg/L (g)

«примирением») и снижением двигательного поведения. Как правило, рыба большую часть времени находилась в нижней части просмотрового аквариума и совершала небольшие перемещения вдоль него (рис. 1). При этом часто наблюдали фризинг, число и время которого за опыт были достаточно велики, как и время пребывания рыбы в нижней части аквариума. Динамика времени пребывания рыбы в нижнем отсеке практически не изменялась, также как и динамика времени пребывания рыбы в верхнем отсеке и динамика числа перемещений рыбы в верхний отсек. Полученные результаты

во многом согласуются с данными литературы. В частности, отмечается, что тестирование стресса новизны применяется в ряде лабораторий для исследования уровня тревожности у *Danio rerio* [21]. При этом рыбы, как правило, плавают в нижней части аквариума и часто замирают (демонстрируя фризинг). Двигательное (и исследовательское) поведение значительно снижается по сравнению с поведением в домашнем аквариуме [16]. После периода адаптации к просмотровому аквариуму поведение становится во многом подобно таковому в домашнем аквариуме, то есть двигательная активность

увеличивается, уменьшается фризинг и увеличивается число переходов в верхнюю половину аквариума [12].

Настоящее исследование выявило ряд типичных паттернов поведения у *Danio rerio* после введения бензодиазепиновых транквилизаторов Диазепама и Тофизопама. При этом рыбы плавали не только в нижней части просмотрового аквариума, но и стали больше подниматься вверх, особенно при использовании Диазепама в дозе 1 мг/л (см. рис. 1, а). Число и время паттерна «фризинг» после введения Диазепама достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных в дозах 0,5 и 1 мг/л. Время пребывания рыбы в нижней части аквариума после введения Диазепама значительно снижалось, особенно при использовании препарата в дозах 0,5 и 1 мг/л. Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума после введения Диазепама достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных, особенно при использовании препарата в дозе 1 мг/л. На фоне действия анксиолитиков средняя длина пути рыбы существенно не изменялась в диапазоне использованных доз по сравнению с контрольной группой животных, за исключением группы Гидроксизина и Тофизопама (табл. 1, 2). При этом так же, как и в контроле, наблюдался фризинг. Количество и время замирания рыбы (фризинг) достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$) (табл. 1). Среднее время пребывания рыбы в нижней части аквариума также достоверно снижалось по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$) (табл. 2). Число перемещений рыбы в верхнюю часть тестового аквариума за опыт достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$).

Ранее показано, что Феназепам дозозависимо (0,1–1 мг/л) оказывает анксиолитический эффект в оценке новизны у *Danio rerio*. Длина траектории рыбы после введения Феназепама существенно не увеличивалась по сравнению с контрольной группой животных, в отличие от действия Диазепама (достоверное увеличение траектории движения в дозах 0,5 и 1 мг/л). Число и время паттерна «фризинг» после введения Феназепама достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных. Время пребывания рыбы в нижней части аквариума после введения Феназепама значительно снижалось, особенно при дозе 1 мг/л. Число перемещений рыбы в верхнюю часть просмотрового аквариума после введения Феназепама достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных, особенно при использовании препарата в дозе 1 мг/л. Диазепам в отличие от феназепама вызывает повышение двигательной активности, что нехарактерно для транквилизаторов. Полученные результаты не противоречат литературным данным. Показано, что для Диазепама в отличие от Феназепама характерен куполообразный дозозависимый эффект [22]. Тестирование анксиолитиков в ряде лабораторий с целью изучения противотревожного эффекта у *Danio rerio* продемонстрировало достаточно типичную картину поведенческих паттернов рыб, аналогичную полученным нами результатам. При этом паттерны поведения под

действием транквилизаторов у *Danio rerio* сходны с таковыми у грызунов (крысы, мыши) — наиболее частом объекте изучения транквилизаторов. В литературе описаны анксиолитические эффекты диазепама [23], хлордиазепоксида [21] и феназепама [24] у *Danio rerio*. Отмечено, что бензодиазепиновые анксиолитики Диазепам и Хлордиазепоксид не уступают по выраженности противотревожного эффекта агонисту 5HT_{1A}-рецепторов Буспиرونу. Единственным отличием в действии бензодиазепиновых препаратов авторы называют пороговую анксиолитическую дозу, на которую животные реагируют без седативного эффекта, то есть без снижения двигательной активности [21]. Более того, в наших опытах выявлена характеристика действия Диазепама, заключающаяся в снятии стресса новизны с увеличением двигательной активности (нетипичный анксиолитический эффект). Этот эффект транквилизатора Диазепама может объясняться растормаживанием вследствие активации пресинаптических ГАМК-A-рецепторов [25]. При использовании Диазепама движения рыб были строго приурочены ко дну просмотрового аквариума (см. рис. 1) по сравнению с контрольными животными, что говорит о депримирующем действии транквилизатора при повышении его дозы. Полученные характеристики Диазепама, безусловно, могут быть использованы и при оценке других классов (групп) лекарственных препаратов, что открывает определенные перспективы использования *Danio rerio* в качестве недорогого, но достаточно информативного теста для целей фармакологии. Таким образом и статистически, и графически мы можем подтвердить эффект транквилизаторов бензодиазепинового ряда на *Danio rerio* в сравнении с контрольной группой.

На фоне действия анксиолитиков средняя длина пути рыбы существенно не изменялась в диапазоне использованных доз по сравнению с контрольной группой животных, за исключением группы Гидроксизина (табл. 2). При этом так же, как и в контроле, наблюдался фризинг. Количество и время замирания рыбы (фризинг) достоверно снижались по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$) (табл. 2). Среднее время пребывания рыбы в нижней части аквариума также достоверно снижалось по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$) (табл. 2). Число перемещений рыбы в верхнюю часть тестового аквариума за опыт достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. В тесте новизны *Danio rerio* большую часть времени находились в нижней части просмотрового аквариума и совершали небольшие перемещения. При этом часто наблюдали фризинг, число и время которого за опыт были достаточно велики, как и время пребывания рыбы в нижней части аквариума. Динамика времени пребывания рыбы в нижнем и верхнем отсеках практически не изменялась.

2. Введение анксиолитиков бензодиазепинового и небензодиазепинового рядов у *Danio rerio* вызывало типич-

ный анксиолитический эффект: подъем в верхнюю часть аквариума, увеличение числа и времени паттерна «фриз-инг», снижение времени пребывания рыбы в нижней части аквариума, повышение числа перемещений в верхнюю часть аквариума. В то же время длина траектории после введения бензодиазепиновых транквилизаторов не изменялась или снижалась (Тофизопам), а после введения небензодиазепиновых транквилизаторов (Гидроксидин) повышалась. Картина траектории движения рыб также отличалась: небензодиазепиновые транквилизаторы вызывали равномерное плавание практически по всем секторам аквариума в отличие от действия бензодиазепиновых транквилизаторов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях).

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Experiments with animals were carried out in accordance with international rules (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гольц В.А., Лебедев А.А., Ереско С.О. и др. Влияние ксипептина костистых рыб kiss1 и аналогов ксипептина млекопитающих на коммуникативное поведение *Danio rerio*, вызванное социальной изоляцией. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2024;22(2):191–203. DOI: 10.17816/RCF625892.
2. Ураков А.Л., Фишер Е.Л., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Аквариумные рыбки и температурная нейрoфармакология. *Обновление. Психофармакология и биологическая наркология.* 2024;15(1):41–52. DOI: 10.17816/phbn625545.
3. Гольц В.А., Лебедев А.А., Блаженко А.А. и др. Анксиолитическое действие аналогов ксипептина у *Danio rerio*. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2023;21(2):159–169. DOI: 10.17816/RCF321976.
4. Kalueff A.V., Echevarria D.J., Stewart A.M. Gaining translational momentum: more zebrafish models for neuroscience research. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol Psychiatry.* 2014;55:1–6. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2014.01.022.
5. Блаженко А.А., Хохлов П.П., Лебедев А.А. и др. Содержание грелина в разных отделах головного мозга у *Danio rerio* после стрессорного воздействия. *Психофармакология и биологическая наркология.* 2022;13(3):37–42. DOI: 10.17816/phbn267375.
6. Хохлов П.П., Байрамов А.А., Блаженко А.А. и др. Пептидные сигнальные системы костистых рыб как новая молекулярная модель для экспериментальной нейрoфармакологии. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2023;22(1):42–52. DOI: 10.37903/vsgma.2023.1.6.
7. Gerlai R. Zebrafish antipredatory responses: a future for translational research. *Behav Brain Res.* 2010;207:223–231. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.10.008.
8. Demin K.A. 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. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2020.108637.
9. Stewart A., Wu N., Cachat J. et al. Pharmacological modulation of anxiety-like phenotypes in adult zebrafish behavioral models. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011;35(6):1421–1431. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035.
10. Egan R.J., Bergner C.L., Hart P.C. et al. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. *Behav Brain Res.* 2009;205(1):38–44. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.06.022.
11. Maximino C., Marques de Brito T., Dias C.A. et al. Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. *Nat Protoc.* 2010;5(2):209–216. DOI: 10.1038/nprot.2009.225.
12. Sackerman J., Donegan J.J., Cunningham C.S. 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.
13. Levin E.D., Bencan Z., Cerutti D.T. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. *Physiol Behav.* 2007;90(1):54–58. DOI: 10.1016/j.physbeh.2006.08.026.
14. Шабанов П.Д., Лебедев В.А., Лебедев А.А., Бычков Е.Р. Влияние стресса новизны на поведенческие ответы *Danio rerio* и оценка дозозависимых эффектов анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере феназепама. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2017;15(3):57–63. DOI: 10.17816/RCF15357-63.



15. Лебедев А.А., Блаженко А.А., Гольц В.А. и др. Действие аналогов кисспептина на поведение *Danio rerio*. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2022;20(2):201–210. DOI: 10.17816/RCF202201-210.
16. Wong K., Elegante M., Bartels B. et al. Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (*Danio rerio*). *Behav Brain Res*. 2010;208(2):450–457. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.12.023.
17. Лебедев А.А., Пшеничная А.Г., Бычков Е.Р. и др. Антагонист рецепторов кортиколиберина астрессин снимает тревожно-фобические состояния у крыс, выращенных в социальной изоляции. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2016;14(4):24–31. DOI: 10.17816/RCF14424-31.
18. Cachat J., Stewart A., Grossman L. et al. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult zebrafish. *Nat Protoc*. 2010;5(11):1786–1799. DOI: 10.1038/nprot.2010.140.
19. Лебедев А.А., Девяшин А.С., Блаженко А.А. и др. Поведенческий анализ анксиолитического действия феназепама в условиях острого психогенного стресса (предъявления хищника) у *Danio rerio*. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2021;19(1):71–78. DOI: 10.17816/RCF19171-78.
20. Лебедев В.А., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Возможность использования поведенческих ответов *Danio rerio* в оценке дозозависимых эффектов феназепама. Лабораторные животные для научных исследований. 2018;(1):12–21. DOI: 10.29296/2618723X-2018-01-02.
21. Bencan Z., Sledge D., Levin E.D. Buspirone, chlordiazepoxide and diazepam effects in a zebrafish model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*. 2009;94(1):75–80. DOI: 10.1016/j.pbb.2009.07.009.
22. Девяшин А.С., Блаженко А.А., Лебедев В.А. и др. Оценка дозозависимых эффектов анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере диазепама у *Danio rerio*. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2020;18(1):43–49. DOI: 10.17816/RCF18143-49.
23. Creton R. Automated analysis of behavior in zebrafish larvae. *Behav Brain Res*. 2009;203(1):127–136. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.04.030.
24. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Корнилов В.А. и др. Психофармакологический профиль ноотропоподобных пептидов. Психофармакология и биологическая наркология. 2009;9(1–2):2517–2523.
25. Violle N., Messaoudi M., Lefranc-Millot C. et al. Ethological comparison of the effects of a bovine alpha s1-casein tryptic hydrolysate and diazepam on the behaviour of rats in two models of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;84(3):517–523. DOI: 10.1016/j.pbb.2006.06.017.
3. Golts V.A., Lebedev A.A., Blazhenko A.A. et al. Anxiolytic effects of kisspeptin analogs in *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2023;21(2):159–169. (In Russian). DOI: 10.17816/RCF321976.
4. Kalueff A.V., Echevarria D.J., Stewart A.M. Gaining translational momentum: more zebrafish models for neuroscience research. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014;55:1–6. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2014.01.022.
5. Blazhenko A.A., Khokhlov P.P., Lebedev A.A. et al. Ghrelin content in different brain regions of *Danio rerio* after stress exposure. *Psychopharmacology and Biological Narcology*. 2022;13(3):37–42. (In Russian). DOI: 10.17816/phbn267375.
6. Khokhlov P.P., Bayramov A.A., Blazhenko A.A. et al. Peptidergic signaling systems of bony fish as a new molecular model for experimental neuropharmacology. *Bulletin of Smolensk State Medical Academy*. 2023;22(1):42–52. (In Russian). DOI: 10.37903/vsgma.2023.1.6.
7. Gerlai R. Zebrafish antipredatory responses: a future for translational research. *Behav Brain Res*. 2010;207:223–231. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.10.008.
8. Demin K.A. 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. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2020.108637.
9. Stewart A., Wu N., Cachat J. et al. Pharmacological modulation of anxiety-like phenotypes in adult zebrafish behavioral models. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(6):1421–1431. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035.
10. Egan R.J., Bergner C.L., Hart P.C. et al. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. *Behav Brain Res*. 2009;205(1):38–44. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.06.022.
11. Maximino C., Marques de Brito T., Dias C.A. et al. Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. *Nat Protoc*. 2010;5(2):209–216. DOI: 10.1038/nprot.2009.225.
12. Sackerman J., Donegan J.J., Cunningham C.S. 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.
13. Levin E.D., Bencan Z., Cerutti D.T. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. *Physiol. Behav*. 2007;90(1):54–58. DOI: 10.1016/j.physbeh.2006.08.026.
14. Shabanov P.D., Lebedev V.A., Lebedev A.A., Bychkov E.R. Novelty stress and behavioral response in *Danio rerio*: dose-dependent effects of benzodiazepine anxiolytics using phenazepam. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(3):57–63. (In Russian). DOI: 10.17816/RCF15357-63.
15. Lebedev A.A., Blazhenko A.A., Golts V.A. et al. Effects of kisspeptin analogs on behavior of *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2022;20(2):201–210. (In Russian). DOI: 10.17816/RCF202201-210.
16. Wong K., Elegante M., Bartels B., et al. Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (*Danio rerio*). *Behav Brain Res*. 2010;208(2):450–457. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.12.023.
17. Lebedev A.A., Pshenichnaya A.G., Bychkov E.R. et al. Astressin, a CRF receptor antagonist, alleviates anxiety-phobic states in rats reared in

REFERENCES

1. Golts V.A., Lebedev A.A., Eresko S.O., et al. Effects of bony fish kisspeptin kiss1 and mammalian kisspeptin analogs on the communicative behavior of *Danio rerio* under social isolation. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2024;22(2):191–203. (In Russian). DOI: 10.17816/RCF625892.
2. Urakov A.L., Fischer E.L., Lebedev A.A., Shabanov P.D. Aquarium fish and temperature neuropharmacology. Update. *Psychopharmacology and Biological Narcology*. 2024;15(1):41–52. (In Russian). DOI: 10.17816/phbn625545



- social isolation. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2016;14(4):24–31. (In Russian). DOI: 10.17816/RCF14424-31.
18. Cachat J., Stewart A., Grossman L. et al. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult zebrafish. *Nat Protoc*. 2010;5(11):1786–1799. DOI: 10.1038/nprot.2010.140.
19. Lebedev A.A., Devyashin A.S., Blazhenko A.A. et al. Behavioral analysis of anxiolytic effects of phenazepam under acute predator stress in *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2021;19(1):71–78. (In Russian). DOI: 10.17816/RCF19171-78.
20. Lebedev V.A., Lebedev A.A., Bychkov E.R., Shabanov P.D. Behavioral responses of *Danio rerio* for assessment of dose-dependent effects of phenazepam. *Laboratory Animals for Scientific Research*. 2018;(1):12–21. (In Russian). DOI: 10.29296/2618723X-2018-01-02.
21. Bencan Z., Sledge D., Levin E.D. Buspirone, chlordiazepoxide and diazepam effects in a zebrafish model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*. 2009;94(1):75–80. DOI: 10.1016/j.pbb.2009.07.009.
22. Devyashin A.S., Blazhenko A.A., Lebedev V.A. et al. Dose-dependent effects of benzodiazepine anxiolytics: example of diazepam in *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2020;18(1):43–49. (In Russian). DOI: 10.7816/RCF18143-49.
23. Creton R. Automated analysis of behavior in zebrafish larvae. *Behav Brain Res*. 2009;203(1):127–136. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.04.030.
24. Shabanov P.D., Lebedev A.A., Kornilov V.A. et al. Psychopharmacological profile of nootropic-like peptides. *Psychopharmacology and Biological Narcology*. 2009;9(1–2):2517–2523. (In Russian).
25. Violle N., Messaoudi M., Lefranc-Millot C. et al. Ethological comparison of the effects of a bovine alpha s1-casein tryptic hydrolysate and diazepam on the behaviour of rats in two models of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;84(3):517–523. DOI: 10.1016/j.pbb.2006.06.017.