

## DANIO RERIO (ZEBRAFISH) КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

© Дмитрий Александрович Качанов<sup>1</sup>, Никита Михайлович Лакеенков<sup>1</sup>,  
Кирилл Евгеньевич Левикин<sup>1</sup>, Александра Александровна Блаженко<sup>2</sup>,  
Галина Яковлевна Лапкина<sup>1</sup>, Георгий Отарович Багатурия<sup>3</sup>,  
Сергей Николаевич Прошин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова.  
195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47

<sup>2</sup> Институт экспериментальной медицины. 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет.  
194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

**Контактная информация:** Кирилл Евгеньевич Левикин — студент 3 курса факультета общей медицины Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. E-mail: k.levikin@inbox.ru

**РЕЗЮМЕ.** *Danio rerio* (Zebrafish), как модельный объект в доклинических исследованиях, применяется в последние годы очень широко. Этому способствуют их морфологические, физиологические, биохимические, генетические и эмбриологические особенности, а также экономическая целесообразность и небольшие временные затраты на их разведение. Цель — обобщение имеющихся данных об использовании *Danio rerio* (Zebrafish) в доклинических исследованиях. Методы. В данной работе проведён мета-анализ отечественных и зарубежных статей о применении *Danio rerio* в токсикологических, фармакологических, эмбриологических и др. направлениях исследований. Результаты. *Danio rerio* (Zebrafish) могут использоваться во многих направлениях доклинических исследований лекарственных препаратов. Особенно интересно их применение для моделирования стресса новизны и экспериментальной депрессии. Выводы. *Danio rerio* представляют собой универсальный модельный объект, позволяющий эффективно и выгодно проводить исследования различных фармакологических препаратов, прежде чем они будут тестироваться на других моделях, в частности моделях других животных.

**Ключевые слова:** *Danio rerio*, Zebrafish, модельный объект, доклинические испытания.

## DANIO RERIO (ZEBRAFISH) — AN UNIVERSAL MODEL OBJECT IN PRECLINICAL STUDIES

© Dmitrii A. Kachanov<sup>1</sup>, Nikita M. Lakeenkov<sup>1</sup>, Kirill E. Levikin<sup>1</sup>,  
Alexandra A. Blazhenko<sup>2</sup>, Galina Ya. Lapkina<sup>1</sup>, Georgij O. Bagaturiya<sup>3</sup>,  
Sergei N. Proshin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov. 195067, St. Petersburg, Piskarevsky Ave., 47

<sup>2</sup> The Institute of Experimental Medicine. 197376, St. Petersburg, st. Academician Pavlov, 12

<sup>3</sup> Saint-Petersburg state Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya st., 2

**Contact Information:** Kirill E. Levikin — 3<sup>rd</sup> year student of the Faculty of General Medicine, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov. E-mail: k.levikin@inbox.ru.

**ABSTRACT.** *Danio rerio* (Zebrafish) as a model object in preclinical studies has been widely used in recent years. This is facilitated by their morphological, physiological, biochemical, genetic and embryological peculiarities, as well as economic benefits and low time costs for their breeding.

The aim — summarize the available data on the use of *Danio rerio* (Zebrafish) in preclinical studies. Methods In this paper, a retrospective analysis of domestic and foreign works on the use of *Danio rerio* in toxicological, pharmacological, embryological, and other areas of research has been carried out. Methods in this paper, a meta-analysis of domestic and foreign articles on the use of *Danio rerio* in toxicological, pharmacological, embryological, and other areas of research has been carried out. Results and discussion. *Danio rerio* (Zebrafish) can be used in many areas of preclinical drug research. Particularly interesting is their use for modeling novelty stress and experimental depression. Conclusion. *Danio rerio* is a universal model object, which makes it possible to carry out research of various pharmacological preparations in a cost-effective manner before they are tested on other animal models.

**Keywords:** *Danio rerio*, Zebrafish, model object, preclinical studies.

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день достоверно известно, что тропические рыбки *Danio rerio* (Zebrafish) являются изученным и практичным модельным объектом доклинических исследований. Они имеют ряд преимуществ по сравнению с различными представителями данного класса и даже другими лабораторными животными, в частности грызунами. Благодаря детальной изученности эмбриогенеза, генома, морфологических особенностей и минимальности затрат на содержание Zebrafish может применяться в биологических, генетических, фармакологических исследованиях и скрининге при мутагенезе, оценке тератогенности и другого воздействия химических веществ.

## ЦЕЛЬ ДАННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Обобщение имеющиеся данных об использовании Zebrafish в доклинических исследованиях, установление их преимуществ и недостатков в конкретных лабораторных испытаниях и дальнейших перспективах работы с данным модельным объектом.

Материалы и методы. В работе был проведен ретроспективный анализ данных зарубежных и отечественных работ (за период 2014–2018 гг.), посвященных использованию *Danio rerio* в различных доклинических исследованиях.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Danio rerio* (Zebrafish) — маленькая пресноводная тропическая рыбка, населяющая преимущественно реки и ручьи Пакистана, Индии, Бангладеша, Непала, Мьянмы и Бутана. Zebrafish, хорошо известная любителям аквариумных рыб, широко применяется в лабораторных исследованиях. *Danio rerio* имеет

продолговатую форму тела, основной тон окраски — серебристый с ярко синими и желто-зелеными полосами. Взрослые особи, обитающие на воле, достигают длины 6–7 см, аквариумные обитатели — 5 см. Zebrafish ведут стайный образ жизни (не менее 7–10 рыбок), большую часть времени держатся в верхних и средних слоях воды. В неволе живут около трех лет.

Главными достоинствами этой рыбки является наличие прозрачного эмбриона, который позволяет в полной мере наблюдать стадии эмбриогенеза. Данная особенность нашла применение в изучении тератогенного, канцерогенного и других влияний различных химических и лекарственных веществ на *Danio rerio*, что проявляется в нарушении этапов развития зародыша или формировании морфологических аномалий развития. Помимо этого, Zebrafish обладает высокой плодовитостью и быстрым периодом созревания эмбрионов. Через 3 дня после оплодотворения у него начинает функционировать сердце, кровеносная и нервная системы. На четвертые сутки происходит формирование малька, способного к самостоятельному питанию и движению. Эта особенность позволяет ускорить процесс исследования и минимизировать затраты в виде средств и времени [6].

Также стоит отметить, что на настоящее время проведено детальное изучение генома *Danio rerio*. Отмечается, что у Zebrafish имеется 70% гомологии с геномом человека, что позволяет их использовать как прекрасную модель для генетических исследований [6].

Сходные биохимические процессы с млекопитающими вновь подтверждают целесообразность использования *Danio rerio* как модели доклинических исследований.

Использование *Danio rerio* в качестве индикаторов загрязнения водоемов

И взрослые особи, и эмбрионы *Danio rerio* могут служить тест-объектами для оценки эффективности гигиенической очистки водоемов в связи с их нарастающим антропогенным загрязнением.

В исследовании Jequeline P. Souza и соавт. особый интерес уделялся токсическому действию графена на организмы, в связи с широкой распространённостью его применения в области биомедицины. В результате проведенных экспериментов в морфологии жабер была выявлена гиперплазия жаберных клеток, являющаяся исходом предшествующего некроза, а также присутствие в них активных форм кислорода. В печени также наблюдались неравномерное распределение гепатоцитов в ткани, нарушение периферического расположения ядер, вакуолеобразование и наличие некротических изменений клеток органа [11].

Исследование Е.О. Аристархова показало, что *Zebrafish* являются более чувствительными к комплексному воздействию загрязняющих веществ в исследуемых водоемах. Спустя 12 часов от начала эксперимента, в большей степени чем у других рыб, у *Danio rerio* наблюдалось усиление векторного движения и снижение активности поедания корма. [1]

### МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ПОСТАНОВКИ СТРЕССА И ДЕПРЕССИИ

В настоящее время *Zebrafish* также активно используются в качестве опытной модели для постановки стресса новизны и экспериментальной депрессии с последующим воздействием препаратов разных фармакологических групп [8, 6]. Для постановки стресса новизны используют следующую методику: *Danio rerio* помещают сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или просто с чистой водой), а затем — в просмотрный аквариум на 6 минут, где автоматически регистрируются траектория движения, длина пути, число перемещений в верхнюю часть аквариума, время пребывания в нижней части аквариума, число и время паттерна «фризинг» (обездвиживание) за каждую минуту эксперимента. В ответ на новизну помещения *Danio rerio* реагируют погружением на дно, увеличением фризинга и снижением числа перемещений в верхнюю половину аквариума. Так, например, на фоне введения феназепама число и время паттерна «фризинг», а также время

пребывания в нижней части аквариума снижались более чем в 2 раза по сравнению с контрольной группой и проявлялся дозозависимый эффект. Тест стресса новизны является высоко чувствительным для изучения тревожно-фобических реакций у *Zebrafish*, и поэтому данная модель может использоваться для изучения поведенческой фармакологии [8].

Для создания экспериментальной депрессии может использоваться и другая модель, заключающаяся в разлучении особей *Danio rerio* по парам в ограниченном пространстве. Данная модель может являться перспективной для изучения уже существующих психоактивных веществ, а также в доклинических исследованиях новых препаратов [6].

### ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП

В исследовании Sílvia Ribeiro и соавт. эмбрионы *Danio rerio* подвергались воздействию препаратов разных фармакологических групп: диклофенака, пропранолола, симвастатина и сертралина. Оценивалось их токсическое воздействие на эмбрионы *Zebrafish*. При оценке влияния диклофенака на эмбрионы наблюдались значительные изменения в развитии: рост аномальных клеток, нарушение стадии эпиболии в развитии зародыша, а также отклонения в формировании желточного мешка. Наиболее существенные нарушения развития были отмечены при концентрации препарата 12,5 мг/л. Число успешно пройденных стадий эпиболии в развитии зародыша уменьшилось с 91 до 82,5% при увеличении концентрации диклофенака с 1,25 до 12,5 мг/л.

При воздействии пропранолола в концентрации 12,5 мг/л выявлялось развитие перикардального выпота, аномалий развития плавников, резко увеличивалась смертность эмбрионов с 32 по 80 часы исследования.

Сертралин в концентрации 10 мг/л приводил к смерти всех эмбрионов к 80 часам исследования. Также было показано значительное снижение успешных стадий эпиболии в развитии зародыша по сравнению с контролем (с 90 до 67,5%).

Симвастатин оказался самым токсичным из исследуемых препаратов. Концентрация 5 мг/л оказалась смертельной для всех эмбрионов с 32 по 80 часы исследования.

В концентрации до 500 мкг/л данный препарат вызывал увеличение количества ано-

мальных эмбрионов с нарушениями зрения, развития хвоста и желточного мешка, а также в полости перикарда рыбок развивался выпот.

Исследование показало, что эмбрионы *Danio rerio* могут использоваться как модель в проведении доклинических исследований по оценке токсичности различных новых фармацевтических препаратов [10].

В работе К.В. Золотарева и соавт. взрослые рыбы *Danio rerio* в течение 4 суток подвергались действию Cd и Cu, концентрации которых были равны ПДК (5 мкг/л для обоих ионов) и сублетальным концентрациям (6,4 мкг/л для кадмия и 80 мкг/л для меди). Исследование действия ионов тяжелых металлов на протеом проводилось методом ВЭЖХ-масс-спектрометрии.

По итогам эксперимента были найдены маркеры токсического действия Cd и Cu на печень и сердечную мышцу (таблица 1) [5].

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ *DANIO RERIO*

Эмбрионы *Zebrafish* являются хорошей моделью для оценки влияния различных веществ на развитие и стимуляцию ооцитов.

В ранее проведенных экспериментах было показано, что для стимуляции овуляции у костистых рыб, как и других позвоночных необходимы эйкозаноиды (ПГФ2α или ПГЕ2).

В исследовании М.Н. Скоблиной и соавт. впервые было показано, что достигшие дефинитивного размера окруженные фолликулярными оболочками ооциты *Danio rerio*, созревшие *in vitro* под влиянием прогестерона, овулируют в результате их обработки ПГФ2α и полостной жидкостью карпа (ПЖК).

В проведенных опытах при обработке фолликулов *Zebrafish* прогестероном и ПГФ2α (5 мкг/мл) после оплодотворения дробилось от 57 до

92% овулировавших ооцитов и от 17 до 61% из них достигало стадии вылупившейся личинки.

В результате воздействия на фолликулы 20% ПЖК, содержащей ПГФ2α, было выявлено, что проценты овулировавших ооцитов *Danio rerio*, стимулированных прогестероном и ПЖК и прогестероном и простагландином у трех из четырех самок не отличаются достоверно [7].

Доклиническое исследование нуклеоспермата натрия («Вирутер») на эмбрионах *Danio rerio* показало, что при добавлении данного препарата в экспериментальные лунки с эмбрионами происходит их более эффективное развитие благодаря активации системы врожденного иммунитета с дальнейшим развитием комплекса регулируемых цитокинами провоспалительных и противовоспалительных сигналов [3].

Можно сделать вывод о том, что ооциты *Zebrafish* являются перспективной моделью для исследования роли различных соединений на процессы созревания клеток и овуляции.

## МОДЕЛЬ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТРАНСПОРТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СИСТЕМ

*Danio rerio* активно используются для разработки новых транспортных лекарственных систем, которые в дальнейшем помогут в лечении различных заболеваний. В частности, весьма актуальным является моделирование опухоли головного мозга *Zebrafish* с последующей ее терапией с помощью доксорубина и паклитаксела, встроенных в экзосому [12].

## МОДЕЛЬ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ НАРКОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

*Danio rerio* могут служить прекрасными тест-объектами для моделирования влияния

Таблица 1

Маркеры токсического воздействия Cd и Cu на печень и сердечную мышцу, установленные при проведении исследований на *Danio rerio*

| Ткань  | Маркеры                                                                        |                                                                                                         |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|        | Cd                                                                             | Cu                                                                                                      |
| Печень | Сульфотрансфераза 3 семейства 2, фермент защитного и гидрофилизующего действия | Eif2s1, субъединица 1 фактора 2 инициации трансляции генов. Образует комплекс с ГТФ и иницирующей т-РНК |
|        | Секреторная фосфолипаза A2, Са-зависимый фермент гидролиза фосфолипидов        | Stat3, сигнальный белок-активатор транскрипции генов                                                    |
| Сердце | НАДН-ДГ(убихинон)                                                              | Шаперонин класса 2                                                                                      |
|        |                                                                                | Селенопротеин J, белок антиоксидантного действия                                                        |



наркотических препаратов на организм *Danio* и дальнейших способов его фармакологической корректировки. Именно это сумели доказать в своем исследовании Eric J. Mercero, Shelby L. Poitra, Ana Espinoza и соавторы.

При измерении электрокардиограммы подверженных воздействию кокаина рыбок *Danio rerio* наблюдалось увеличение ЧСС в колоколообразной зависимости от дозы. Максимальное увеличение проявлялось при дозировке 5 мг/л у большинства рыб в сравнении с базовой частотой. Также стоит отметить, что при воздействии более высоких доз у *Zebrafish* регистрировалась брадикардия.

На основании проделанной работы была введена закономерность о том, что влияние кокаина на частоту сердечных сокращений обладает дозозависимым эффектом. Это в очередной раз подтверждает использование *Danio rerio* в качестве модельной системы для изучения влияния наркотических веществ [9].

## ИССЛЕДОВАНИЯ ГОРМОНОПРЕПАРАТОВ

Заболевания щитовидной железы относятся к числу наиболее распространенных нарушений в работе эндокринной системы. Нарушения ее функции встречаются часто, как у детей, так и у взрослых. Недостаток синтеза и секреции гормонов в раннем возрасте ведет к задержке роста, соматическим нарушениям и олигофрении (кретинизму), в более старшем возрасте — к замедлению обмена веществ (микседеме). С использованием рыбок *Danio rerio* можно проводить оценку влияния гипо- и гипертиреоидного состояния на развитие и выживаемость икринок до появления личинок, регистрируя при этом кровообращение, пигментацию зоны глаз, появление или отсутствие различных аномалий в развитии формы тела [4].

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *DANIO RERIO* ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

В ходе большого количества исследований у *Danio rerio* были идентифицированы гены, связанные с болезнями человека. К таким заболеваниям относятся болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, мышечная дистрофия, лейкемия, тромбоз, кардиомиопатия, диабет и др. Для моделирования на *Danio rerio* этих заболеваний используют

различные подходы. Так, например, нейротоксин — 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин, применяется для моделирования паркинсонизма у рыбок, так как механизм действия этого соединения, связанный с разрушением дофаминергических нейронов, у *Danio rerio* и млекопитающих один и тот же [2].

## ВЫВОДЫ

В настоящее время большое количество лабораторий всего мира используют *Zebrafish* в своих исследованиях. Эти небольшие рыбки обладают несомненными преимуществами перед грызунами: относительно невысокая стоимость работ, небольшие временные затраты и простота в разведении. Данный модельный объект способствует не только созданию новых лекарственных препаратов, но и позволяет на основе созданных моделей болезни человека более подробно изучать их патогенез, а также влияние на органы и системы. Модель *Danio rerio* не заменяет классические модели млекопитающих, она может служить первым этапом доклинических исследований, перед тем как они будут проведены, в частности, на грызунах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аристархова Е.О. Экспресс-оценка токсичности вод поверхностных источников водоснабжения с использованием рыб *Danio rerio*. Рыбохозяйственная наука Украины. 2017; № 3.
2. Беляева Н.Ф. и соавт. Зебрафиш как модель в биомедицинских исследованиях. Биомедицинская химия. 2010; Т. 56(1): 120–131.
3. Блаженко А.А., Качанов Д.А., Прошин С.Н. Доклиническое исследование нуклеоспермата натрия на модели *Danio rerio*. Мечниковские чтения-2018: материалы Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова; 2018: 630–631.
4. Блаженко А.А., Качанов Д.А., Прошин С.Н. Исследование гормонов на модели *Danio rerio* (*Zebrafish*). Мечниковские чтения-2018: материалы Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова; 2018: 633–634.
5. Золотарёв К.В., Беляева Н.Ф., Михайлова М.В. и соавт. Поиск маркеров токсического действия  $CD2+$  и  $Cu^{2+}$  методом протеомного профилирования печени и сердца *Danio rerio*. Биотехнология и медицина; 2015.

6. Качанов Д.А. Сравнительный анализ влияния селективных ингибиторов обратного захвата серотонина на поведение *Danio rerio* в условиях экспериментальной депрессии. Мечниковские чтения-2018: материалы Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова; 2018: 636–637.
7. Скобкина М.Н., Минин А.А. Гормональная индукция созревания и овуляции *in vitro* овоцитов Данио рерио (*Danio rerio*) и получение яйцеклеток, способных к оплодотворению и развитию. Онтогенез. 2016; Т. 47(5): 314–319.
8. Шабанов П.Д., Лебедев В.А., Лебедев А.А. и соавт. Влияние стресса новизны на поведенческие ответы *Danio rerio* и оценка дозозависимых эффектов анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере феназепама. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017; Т. 15(3): 57–63. doi: 10.17816/RCF15357–63.
9. Eric J. Mercero, Shelby L. Poitra, Ana Espinoza et al. The effect of cocaine on heart rate and electrocardiogram in *Danio rerio*. *Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2015: 1–6. DOI: 10.1016 / j. cbpc.2015.03.007.
10. Silvia Ribeiro, Tiago Torres, Rosario Martins et al. Toxicity screening of Diclofenac, Propranolol, Sertraline and Simvastatin using *Danio rerio* and *Paracentrotus lividus* embryo bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015: 67–74.
11. Souza J. P. et al. *Aquatic Toxicology*. 2017; 186: 11–18.
12. Yang T., Martin P., Fogarty B. et al. *Pharm Res* (2015) 32: 2003. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1593-y>.
4. Blazhenko A.A., Kachanov D.A., Proshin S.N. Issledovanie gormonopreparatov na modeli *Danio rerio* (Zebrafish). [Study of hormones on the model of *Danio rerio* (Zebrafish)]. *Mechnikovskie chteniya-2018: materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy studencheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem*. SPb.: Izd-vo SZGMU im. I.I. Mechnikova; 2018: 633–634 (in Russian).
5. Zolotaryov K.V., Belyaeva N.F., Mihajlova M.V. i soavt. Poisk markyrovov toksicheskogo dejstviya CD2+ i Cu2+ metodom proteomnogo profilirovaniya pecheni i serdca *Danio rerio*. [Search for markers of toxic effect of CD2+ and Cu2+ by proteomic profiling of the liver and heart *Danio rerio*]. *Biotekhnologiya i medicina*; 2015 (in Russian).
6. Kachanov D.A. Sravnitel'nyj analiz vliyaniya selektivnyh ingibitorov obratnogo zahvata serotonina na povedenie *Danio rerio* v usloviyah ehksperimental'noj depressii. [Comparative analysis of the effect of selective serotonin reuptake inhibitors on the behavior of *Danio rerio* in experimental depression]. *Mechnikovskie chteniya-2018: materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy studencheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem*. SPb.: Izd-vo SZGMU im. I.I. Mechnikova; 2018: 636–637 (in Russian).
7. Skobkina M.N., Minin A.A. Gormonal'naya indukcija sozrevaniya i ovulyacii *in vitro* ovocitov *Danio rerio* (*Danio rerio*) i poluchenie jajcekletok, sposobnyh k oplodotvoreniju i razvitiyu. [Hormonal induction of maturation and ovulation *in vitro* of *Danio rerio* oocytes and production of eggs capable of fertilization and development]. *Ontogenez*. 2016; Т. 47(5): 314–319 (in Russian).
8. SHabanov P.D., Lebedev V.A., Lebedev A.A. i soavt. Vliyanie stressa novizny na povedencheskie otvety *Danio rerio* i ozenka dozozavisimyh ehffektov anksiolitikov benzodiazepinovogo ryada na primere fenaze-pama. [The effects of stress on behavioural novelty responses *Danio rerio* and evaluation of dose-dependent effects of anxiolytics benzodiazepinovogo series on the example of phenazepam]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii*. 2017; Т. 15(3): 57–63. doi: 10.17816/RCF15357–63 (in Russian).
9. Eric J. Mercero, Shelby L. Poitra, Ana Espinoza et al. The effect of cocaine on heart rate and electrocardiogram in *Danio rerio*. *Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2015: 1–6. DOI: 10.1016 / j. cbpc.2015.03.007.
10. Silvia Ribeiro, Tiago Torres, Rosario Martins et al. Toxicity screening of Diclofenac, Propranolol, Sertraline and Simvastatin using *Danio rerio* and *Paracentrotus lividus* embryo bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015: 67–74.
11. Souza J.P. et al. *Aquatic Toxicology*. 2017; 186: 11–18.
12. Yang T., Martin P., Fogarty B. et al. *Pharm Res* (2015) 32: 2003. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1593-y>.

## REFERENCE

1. Aristarhova E.O. EHkspess-ocenka toksichnosti vod poverhnostnyh istochnikov vodosnabzheniya s ispol'zovaniem ryb *Danio rerio*. [Rapid assessment of the toxicity of water from surface water sources using the fish *Danio rerio*]. *Rybohozyajstvennaya nauka Ukrainy*. 2017; № 3 (in Russian).
2. Belyaeva N.F. i soavt. Zebrafish kak model' v biomedicinskih issledovaniyah. [Zebrafish as a model in biomedical research]. *Biomedicinskaya himiya*. 2010; Т. 56(1): 120–131 (in Russian).
3. Blazhenko A.A., Kachanov D.A., Proshin S.N. Doklinicheskoe issledovanie nukleospermata natriya na modeli *Danio rerio*. [Preclinical study of sodium nucleospermate on the model of *Danio rerio*]. *Mechnikovskie chteniya-2018: materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy studencheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem*. SPb.: Izd-vo SZGMU im. I.I. Mechnikova; 2018: 630–631 (in Russian).
4. Blazhenko A.A., Kachanov D.A., Proshin S.N. Issledovanie gormonopreparatov na modeli *Danio rerio* (Zebrafish). [Study of hormones on the model of *Danio rerio* (Zebrafish)]. *Mechnikovskie chteniya-2018: materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy studencheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem*. SPb.: Izd-vo SZGMU im. I.I. Mechnikova; 2018: 633–634 (in Russian).
5. Zolotaryov K.V., Belyaeva N.F., Mihajlova M.V. i soavt. Poisk markyrovov toksicheskogo dejstviya CD2+ i Cu2+ metodom proteomnogo profilirovaniya pecheni i serdca *Danio rerio*. [Search for markers of toxic effect of CD2+ and Cu2+ by proteomic profiling of the liver and heart *Danio rerio*]. *Biotekhnologiya i medicina*; 2015 (in Russian).
6. Kachanov D.A. Sravnitel'nyj analiz vliyaniya selektivnyh ingibitorov obratnogo zahvata serotonina na povedenie *Danio rerio* v usloviyah ehksperimental'noj depressii. [Comparative analysis of the effect of selective serotonin reuptake inhibitors on the behavior of *Danio rerio* in experimental depression]. *Mechnikovskie chteniya-2018: materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy studencheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem*. SPb.: Izd-vo SZGMU im. I.I. Mechnikova; 2018: 636–637 (in Russian).
7. Skobkina M.N., Minin A.A. Gormonal'naya indukcija sozrevaniya i ovulyacii *in vitro* ovocitov *Danio rerio* (*Danio rerio*) i poluchenie jajcekletok, sposobnyh k oplodotvoreniju i razvitiyu. [Hormonal induction of maturation and ovulation *in vitro* of *Danio rerio* oocytes and production of eggs capable of fertilization and development]. *Ontogenez*. 2016; Т. 47(5): 314–319 (in Russian).
8. SHabanov P.D., Lebedev V.A., Lebedev A.A. i soavt. Vliyanie stressa novizny na povedencheskie otvety *Danio rerio* i ozenka dozozavisimyh ehffektov anksiolitikov benzodiazepinovogo ryada na primere fenaze-pama. [The effects of stress on behavioural novelty responses *Danio rerio* and evaluation of dose-dependent effects of anxiolytics benzodiazepinovogo series on the example of phenazepam]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii*. 2017; Т. 15(3): 57–63. doi: 10.17816/RCF15357–63 (in Russian).
9. Eric J. Mercero, Shelby L. Poitra, Ana Espinoza et al. The effect of cocaine on heart rate and electrocardiogram in *Danio rerio*. *Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2015: 1–6. DOI: 10.1016 / j. cbpc.2015.03.007.
10. Silvia Ribeiro, Tiago Torres, Rosario Martins et al. Toxicity screening of Diclofenac, Propranolol, Sertraline and Simvastatin using *Danio rerio* and *Paracentrotus lividus* embryo bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015: 67–74.
11. Souza J.P. et al. *Aquatic Toxicology*. 2017; 186: 11–18.
12. Yang T., Martin P., Fogarty B. et al. *Pharm Res* (2015) 32: 2003. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1593-y>.