

ОБЗОРНЫЕ
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

ЗЕБРАДАНИО (ZEBRAFISH) КАК НОВАЯ ПЕРСПЕКТИВНАЯ МОДЕЛЬ
В ТРАНСЛЯЦИОННОЙ НЕЙРОБИОЛОГИИ

© 2019 г. Н. А. Кротова^{1, 2}, А. М. Лакстыгал^{2, 3}, А. С. Таранов², Н. П. Ильин²,
М. В. Бытов⁶, А. Д. Волгин^{2, 4}, Т. Г. Амстиславская⁴,
К. А. Демин^{1, 2, *}, А. В. Калуев^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, **}

¹Институт экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский
центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

²Институт трансляционной биомедицины СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

³Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁴Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины,
Новосибирск, Россия

⁵School of Pharmacy, Southwest University, Chongqing, China

⁶Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

⁷ZENEREI Institute, Slidell, LA, USA

⁸The International Stress and Behavior Society (ISBS), US HQ, New Orleans, LA, USA

*E-mail: deminkasci@gmail.com

**E-mail: avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию 22.08.2019 г.

После доработки 07.09.2019 г.

Принята к публикации 07.09.2019 г.

Danio rerio (zebrafish, зебраданио) — относительно новый модельный объект, все более активно используемый в биомедицинских исследованиях, включая изучение центральной нервной системы (ЦНС) и поиск новых лекарственных средств. Количество исследований, посвященных нейробиологии зебраданио, стремительно растет и в относительном размере превосходит рост публикаций по всем другим модельным организмам в биомедицине. Популярность модели обеспечили относительная простота ее использования, хорошо описанная физиология, высокая генетическая гомология с людьми, быстрое развитие, возможность высокопроизводительного биоскрининга и низкая стоимость исследований. В работе обсуждается текущая роль зебраданио в трансляционной нейробиологии и потенциал их использования с новейшими методиками биологических исследований. Несмотря на то, что поиск и описание эффектов известных психоактивных веществ на зебраданио активно внедряются в повседневную практику, в том числе и в России, изучение заболеваний мозга на данной модели остается ограниченным. Мы подчеркиваем важность исследований патогенеза ЦНС на зебраданио в связи с высоким потенциалом модели как объекта, эволюционная консервативность и относительная простота лабораторного применения которого могут помочь определить основные биомаркеры и механизмы сложных гетерогенных заболеваний мозга.

Ключевые слова: *Danio rerio*, зебраданио, трансляционная биомедицина, нейробиология, моделирование заболеваний мозга

DOI: 10.1134/S0869813919110062

Одна из социально значимых проблем сегодня — увеличение числа людей, страдающих психическими расстройствами. Важным этапом для нейробиологии является

расширение спектра модельных организмов и попытки обнаружить эволюционно консервативные механизмы патогенеза и их биомаркеры. По этическим и законодательным причинам возможности биомедицинских исследований на человеке ограничены [1, 2], и поэтому животные модели человеческих заболеваний широко используются в биомедицинских исследованиях [3]. Наиболее популярными лабораторными животными являются грызуны [3], которые (благодаря физиологической и генетической гомологии с человеком) привели к фундаментальным открытиям в области биомедицины [4, 5] и также широко используются для тестирования токсичности или терапевтических свойств препаратов [6, 7].

В последнее время в биомедицинские исследования активно вводится новый модельный организм — зебраданио (*zebrafish*, *Danio rerio*). Преимуществами их использования являются высокая фертильность, быстрое развитие, наружное оплодотворение, легкость генетических манипуляций, простота содержания и низкая стоимость [8]. Размер тела взрослой особи колеблется в пределах от 2 до 4 см [9]. В лабораторной практике данный организм с самого начала оказался популярен среди эмбриологов и токсикологов [10, 11] в силу ряда его биологических особенностей. В первую очередь, самые ранние этапы развития у зебраданио можно наблюдать с помощью неинвазивных методов из-за прозрачности эмбриона [10]. Оплодотворение у зебраданио наружное [12], поэтому икринки могут быть отобраны для исследования на самых первых стадиях эмбриогенеза. Икра зебраданио прозрачна и не требует применения сложных методов визуального исследования развития животного [13]. После того как мальки покидают прозрачный хорион, они остаются относительно прозрачными продолжительное время [14], что позволяет продолжить исследование развития всех систем органов. Помимо эмбриологии и токсикологии, относительно недавно зебраданио стал популярным объектом и в нейробиологических исследованиях [15]. Несмотря на то, что грызуны более близки к человеку с точки зрения эволюции, уровень генетической и физиологической гомологии зебраданио и человека достаточно высок (70–75%) [12]. Зебраданио имеет аналоги многих структур головного мозга человека [16], в том числе коры, которая, однако, представлена латеральными и вентральными участками плаща (*pallium*), а не самостоятельной структурой, из-за меньшего развития по сравнению с корой млекопитающих [17]. Нейрохимические системы рыб хорошо развиты, и большая часть нейротрансмиттеров человека также наблюдается как у мальков, так и у взрослых зебраданио, в том числе глутаматергическая, ГАМК-ергическая, холинергическая, гистаминергическая, дофаминергическая, серотонинергическая и норадренергическая системы [18].

Действие различных фармакологических препаратов на ЦНС зебраданио и человека также сходно поскольку наблюдается высокая генетическая консервативность среди активных сайтов энзимов, рецепторов, транспортеров и каналов [19]. Зебраданио также эффективны в тестах, регистрирующих различные поведенческие показатели, что связано с выраженными и легко регистрируемыми поведенческими реакциями в различных условиях, наблюдающимися у взрослых рыб и мальков [20]. В ходе изучения поведения зебраданио получены данные, позволяющие точно и эффективно изучить корреляцию поведения и физиологических, в т. ч. — нейрональных показателей [21]. Были созданы модели патологий развития и нейродегенераций, например, болезней Паркинсона и Альцгеймера, изучено влияние многих психоактивных препаратов на зебраданио и описаны механизмы их действия [22]. Разработаны методы для изучения расстройств аутистического спектра (РАС), шизофрении и аффективных (тревожных и депрессивных) расстройств, а также создаются новые, направленные на моделирование обсессивно-компульсивного, посттравматического стрессорного расстройств (ПТСР), и синдрома дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) [23, 24]. При этом поведение зебраданио более

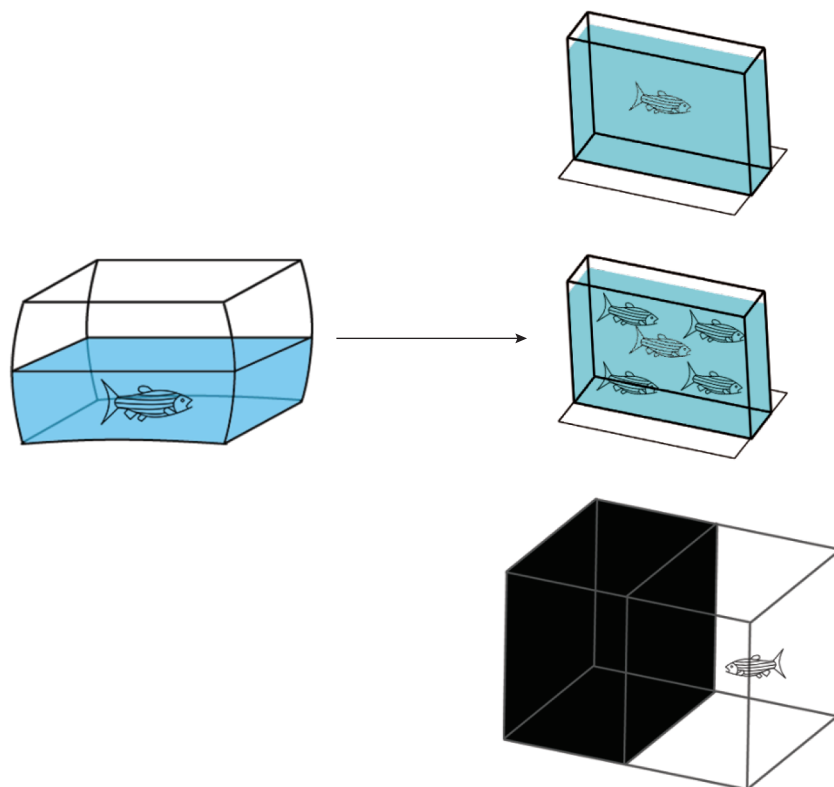


Рис. 1. Типичный процесс постановки поведенческого эксперимента для определения эффектов психоактивных препаратов на зебрании. Перед тестированием рыба выдерживается в сосуде, содержащем препарат, от 5 до 60 мин (в зависимости от протокола и вещества). Справа – типичные экспериментальные аппараты для постановки теста незнакомого аквариума (вверху), тест на построение косяка (используется тот же аквариум, что и в тесте незнакомого аквариума, в центре) и тест черно-белого (темно-светлого) аквариума (внизу).

простое (по сравнению с грызунами), что для ряда поведенческих исследований может быть полезно, так как у грызунов часто сложно разделить поведенческий фенотип на дискретные паттерны. Весомым аргументом в пользу использования зебрании как модельного объекта для исследований являются его дешевизна, а также простота содержания и разведения. Так, зебрании производят большое количество потомства (даже несмотря на средний уровень выживаемости около 50% [25]), что позволяет собирать данные в большем количестве, чем на грызунах. В настоящей работе мы приводим актуальные данные о потенциале использования зебрании как объекта современных нейробиологических исследований и обсуждаем возможные перспективы развития этой области.

КЛАССИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ТЕСТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВЕДЕНИЯ ЗЕБРАДАНИО

На сегодняшний день существует множество тестов для оценки поведения зебрании в норме и патологии (рис. 1). С помощью теста незнакомого аквариума (novel tank test) и черно-белого аквариума (light-dark box test), которые концепту-

ально аналогичны тестам открытого поля и черно-белой камеры у грызунов, изучаются расстройства аффективного спектра посредством оценки исследовательской активности в незнакомой среде [26, 27]. В тесте незнакомого аквариума рыбу помещают в незнакомый ей узкий (например, 20 × 20 × 5 см) аквариум, условно разделенный на две равные части горизонтальной линией [28, 29]. В течение 5–6 мин записываются такие поведенческие показатели рыбы как время, проведенное в верхней части аквариума, количество переходов в верхнюю часть аквариума, количество стрессорных хаотических/эргатических движений (с резким изменением направления и скорости [20]), количество замираний (фризинга) и время, на которое рыба замирает [28, 30–33]. Изначально зебраданио находится в нижней части аквариума, могут наблюдаться эргатические движения и фризинг, что считается признаком тревожного поведения. По мере адаптации к новой среде или при воздействии антитревожными препаратами, рыба начинает активнее заплывать в верхнюю половину, частота эргатических движений и фризинга снижается [34]. В тесте черно-белого аквариума рыбу помещают индивидуально в прямоугольный черно-белый аквариум, заполненный водой (приблизительно на 12–15 см) и разделенный на две равные части, одна из которых белого, а другая – черного цвета (туда помещается рыба). В тесте оцениваются следующие параметры: задержка перед заплыванием в белую половину аквариума, проведенное там время и количество переходов между отсеками. Если рыба отдает предпочтение черной половине аквариума, то это является признаком тревожного поведения [27, 35–37]. В тесте построения косяка (shoaling test) используются различные по форме аквариумы, в том числе стандартный аквариум для теста незнакомого аквариума. Рыбы помещаются в аквариум группами (не менее 4 рыб) для оценки таких параметров как плотность построения косяка (среднее расстояние между рыбами в косяке), среднее расстояние до ближайшего соседа, вариация в среднем расстоянии, площадь косяка и др. [38–41]. Считается, что нарушения в механизмах построения косяка связаны с тревожностью и социальным дефицитом, так как плотный косяк соответствует тревожному фенотипу, а слишком разбросанный – асоциальному фенотипу [38, 40–42]. Тест зеркального отражения (mirror exposure test) направлен на оценку агрессивности у зебраданио [43–45]. Рыба помещается в незнакомый аквариум с зеркалом, расположенным на вертикальной стороне стенки, примерно на 6 мин. Агрессивное поведение в данном тесте определяется по числу укусов зеркала, лобовых атак и подходов – быстрых перемещений в сторону своего отражения, воспринимаемого рыбой как образ (потенциального противника).

Также в исследованиях на зебраданио используются тесты на основе предъявления хищника (predator exposure), например, индийской рыбы-листа (Indian leaf fish, *Nandus nandus*). В тесте избегания хищника, используемом для выявления или индукции тревожного фенотипа, зебраданио помещается в центр аквариума с двумя отсеками с хищником в одном из них [46, 47]. Здесь оценивается избегание хищника или готовность приблизиться к нему, в том числе – задержка заплывания в отсек с хищником, время, проведенное там и в отсеке без хищника, а также количество переходов между отсеками. Тест ингибирования избегания используется для оценки памяти [48]. Рыба помещается в белую половину черно-белого аквариума, разделенного пополам прозрачной перегородкой. Спустя минуту акклиматизации, перегородка поднимается, чтобы рыба могла заплыть в черную половину аквариума, затем перегородка закрывается и зебраданио подвергается действию низковольтного электрического тока (0.1 в/см воды) в течение 10 сек, и оценивается латентный период заплыва в черную половину аквариума.

НОВЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Количество нейробиологических исследований на зебраданио устойчиво растет, что подтверждается ростом числа публикаций по ним в научных журналах. В первую очередь это связано с тем, что зебраданио — сравнительно новый модельный объект в нейробиологии. Многие методики для оценки поведения зебраданио дублируют таковые у грызунов и описаны в предыдущем разделе (рис. 1). В течение последних лет активно велось описание характерных черт поведения, их детализация, каталогизация и стандартизация как у взрослых рыб, так и у мальков [20, 49], а также активная разработка и стандартизация протоколов для изучения поведенческих, нейрохимических и эндокринных ответов [50–53]. Кроме того, зебраданио в воде демонстрирует активность в трех измерениях, и поэтому для оценки поведения с недавнего времени начали применять методы трехмерной (3D) визуализации [54]. Методика достаточно проста и требует съемки активности животного двумя камерами (сверху и сбоку), с последующей обработкой сигнала с помощью специализированного программного обеспечения [54]. Данный подход помогает эффективно оценить пространственно-временные аспекты поведения зебраданио, например, в тесте незнакомого аквариума [55]. С помощью 3D-трекинга можно оценить, как с течением времени менялось поведение животного в аквариуме (например, насколько близко к поверхности оно находилось в течение эксперимента), а затем сопоставить изменения в поведении рыб с рядом других показателей, отражающих степень тревожности рыбы (например, уровень стресс-гормона кортизола или экспрессию мозговых маркерных генов) [56], что удобно при тестировании фармакологических препаратов — потенциальных антидепрессантов или анксиолитиков, и изучении их эффектов в динамике.

ОПТОГЕНЕТИКА

В последние годы особый интерес привлекли оптогенетические модели. Оптогенетический подход предполагает использование света для наблюдения клеточной активности и манипуляции ею, в том числе у свободно двигающихся животных [57]. Для этого используется генетическая модификация клеток группой микробных белков — опсинов, в том числе каналородопсином 2 (ChR2). Существуют различные вариации светочувствительных ионных каналов, которые могут быть взяты из растений (водорослей) или животных с последующими модификациями [58, 59]. Например, каналородопсин и галородопсин чувствительны к синему (~490 нм) и желтому (~580 нм) свету, соответственно. Каналы проницаемы для разных ионов [60, 61]. Так, каналородопсины являются каналами деполяризации, а галородопсин — реполяризации [62]. Таким образом, в зависимости от типа канала можно модулировать деятельность нейронов как в сторону их активации, так и в сторону торможения [62]. В связи с легкостью генетической модификации, быстрым развитием и прозрачностью мальков (а также наличием прозрачных линий взрослых рыб), зебраданио обладает высоким потенциалом для применения оптогенетических методов исследования, так как у рыб последующее воздействие на каналы не предполагает инвазивного вмешательства и методологически проще, чем на грызунах. С помощью данного метода можно выявлять конкретные нейрональные пути, вовлеченные в те или иные процессы поведения. Традиционно одним из наиболее распространенных подходов к созданию оптогенетических моделей на зебраданио является трансгенезис с использованием ретровирусов, а также транسخенов, несущих ткане-специфичный промотор, гарантирующий изолированную экспрессию опсина в нужной ткани [63]. Однако новые методики трансгенеза, основанные на системе CRISPR/Cas, представляют собой более простой и удобный способ knock-in трансгенеза, показавший себя эффективным и на зебраданио [64]. Однако на дан-

ный момент оптогенетических модификаций, созданных при помощи CRISPR/Cas knock-in системы, еще не описано. В то же время система CRISPR/Cas в связке с оптогенетическими методами позволяет создать модели с фотоактивируемой генной модификацией, и данный метод уже активно внедряется в лабораторную практику для время-таргетированных модификаций [65].

Хотя взрослые зебраданио являются перспективным организмом для оптогенетических исследований в нейробиологии и изучении психических расстройств [66], в связи с большей простотой поведения и устройства мозга, а также прозрачностью, большая часть современных оптогенетических исследований проводится на мальках [63]. Так, стимуляция небольшой зоны ромбовидного мозга в ромбомере 5 вызывает быстрое движение глаз по типу саккад [67], стимуляция каудальной части ромбовидного мозга приводит к резким плавательным движениям [68], а активация клеток Роона–Бэрда (RB-cells) и Колмера–Агдура (KA-cells) – к реакции избегания или медленным плавательным движениям без изменения направления, соответственно [69, 70]. Однако потенциал оптогенетических моделей более сложных поведенческих реакций у зебраданио все еще остается нераскрытым, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований на данной модели.

Помимо поведенческих исследований, оптогенетические методы также могут быть полезны при изучении развития нервной системы. Например, с помощью фотоконвертируемого белка Кэдэ (Kaede), меняющего свою флуоресценцию под воздействием ультрафиолетового излучения от зеленого к красному свету [71], было показано, в каком порядке развиваются нейроны в конечном мозге зебраданио. Более старые нейроны, развивающиеся в вентральных отделах конечного мозга, в первый день после оплодотворения имели красную флуоресценцию, в то время как нейроны, появившиеся через два дня после оплодотворения в дорсальных отделах, – зеленую [72]. Таким образом, оптогенетика также является удобным методом изучения процессов развития ЦНС у зебраданио.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ НЕРВНОЙ АКТИВНОСТИ (ИМИДЖИНГ)

Также в современной науке набирают популярность новые методы регистрации нейрональной активности, такие как нейрональный имиджинг. В отличие от электрофизиологических исследований, являющихся зачастую инвазивными и регистрирующими ограниченное количество нейронов, методы нейронального имиджинга, в случае с зебраданио, позволяют неинвазивно регистрировать нейрональную активность на уровне всего мозга [63]. Одним из наиболее распространенных методов визуализации является определение концентрации Ca^{2+} в нейронах при помощи чувствительных к Ca^{2+} белков, которые способствуют дифференциальной флуоресценции тканей при контакте с кальцием. Эффект может достигаться как путем доставки специальных веществ непосредственно в нейрональные ткани (например, доставка Fura PE3 AM (TefLabs, Austin, Tex., США) Calcium Green-1 AM, Indo-1 AM или Magnesium Green AM (Molecular Probes, Eugene, Ore., США) [73–76], так и путем генетической модификации организма с помощью плазмид, экспрессирующих, например, yellow cameleon 2.1 (YC2.1) [73–76], GFP Aequorin [73–76], GAV5v1 [73–76]. В связи с высокой прозрачностью, аналогично с оптогенетическими методами, визуализация активнее используется на мальках, чем на взрослых рыбах. Большая часть работ посвящена методологической составляющей и потенциалу использования методики на модели [73–76], а не исследованию специфики нейрональных реакций в ответ на различные стимулы. В последние годы были реализованы, в том числе, методы визуализации, позволяющие осуществлять оценку нейрональной активности на клеточном уровне у свободно движущихся мальков [77]. При помощи инъекции calcium green dextran в спинной мозг зебраданио была

показана дифференциальная активация периферических нисходящих интернейронов (ПНИ) и многополярных комиссуральных нисходящих интернейронов (МКНИ) в ответ на разную двигательную активность [78]. Так, ПНИ неактивны в процессе плавания, однако активируются во время реакции избегания, МКНИ активны во время перемещения рыбы, но даже многократное предъявление стимула не вызывает ответ в случае избегания [78]. Применение оптоакустических (фотоакустических) методов позволяет проводить, в том числе, мониторинг нейрональной активности всего мозга взрослых рыб и является перспективным подходом для будущих исследований [79]. Метод основан на использовании оптоакустического эффекта, при котором при абсорбции света с меняющейся интенсивностью за счет преобразования энергии в тепло, в материале формируются звуковые волны.

НЕЙРОГЕНЕТИКА

Несмотря на то, что зебраданио филогенетически находится гораздо дальше от человека, чем грызуны, генетическая гомология зебраданио и человека достаточно высока (>70%) [80]. Подобная гомология отмечается и для нервной системы, в которой экспрессируется большое количество генов, гомологичных генам ЦНС человека. Это дает возможность использовать зебраданио для исследований генетических основ психических заболеваний. Еще одним серьезным преимуществом зебраданио как объекта для генетических исследований, как уже указано, является наружное оплодотворение [81] и простота генетических манипуляций с прозрачными икринками [13]. На данный момент уже создано большое количество трансгенных линий зебраданио [82–84], например с полным выключением (нокаут) конкретных генов [85, 86]. Дофаминовый транспортер регулирует количество дофамина в синаптической щели, осуществляя его обратный захват после синаптической передачи и тем самым модулируя такие заболевания мозга, как шизофрения [87–89] и СДВГ [90]. С помощью нокаута гена дофаминового транспортера можно смоделировать усиление дофаминового сигналинга, который, как считается, является одним из триггеров к развитию вышеупомянутых патологий. Недавние исследования показали, что зебраданио с нокаутом дофаминового транспортера имеют серьезные отклонения в поведении по сравнению с нормой [91], они проводят больше времени в нижней части аквариума в тесте незнакомого аквариума, а также резко меняют направление плавания (вверх-вниз), что может говорить о тревожном фенотипе, чего не наблюдалось у контрольных рыб дикого типа [91]. При этом, после того, как трансгенное животное получило клозапин (дофаминергический антипсихотик) в концентрации 2.5 мкМ, его поведение приближается к поведению животных дикого типа: рыбы проводят меньше времени в нижней части аквариума, плавание с резкой сменой направления также снижается [91]. Кроме того, у нокаутных зебраданио была обнаружена дегенерация нейронов, экспрессирующих тирозингидроксилазу – фермент, играющий ключевую роль в синтезе катехоламинов (в том числе дофамина) [91]. Клозапин также оказал положительный эффект на регенерацию данных нейронов у нокаутных зебраданио [91].

У зебраданио изучено тревожное поведение, которое в настоящее время хорошо описано и возникает как реакция на стресс [92]. Данное состояние, вызванное кратковременным или продолжительным стрессом, оказывает воздействие на ось стресса у зебраданио, так же как у человека и других млекопитающих [93]. У человека ось стресса представлена гипоталамусом, гипофизом и надпочечниками [93]. Рыба не имеет надпочечников, а их функцию выполняют межпочечные железы (interrenal gland) [94]. Под воздействием стресса данная ось активируется, что приводит к выработке ряда эндокринных факторов, таких как кортиколиберин, адреноркортикотропный гормон и кортизол [92, 95]. В результате воздействия стресса, у

человека и зебранию происходит повышение уровня кортизола [34, 96]. Важно отметить, что у грызунов (в отличие от человека и зебранию) вырабатывается кортикостерон [93], и поэтому можно сказать, что эндокринная регуляция стресса у зебранию физиологически особенно близка к человеку.

Нарушения в работе стресс-оси влекут за собой нарушения в работе всех систем органов [97], в том числе ЦНС [98, 99]. Считается, что данные нарушения лежат в основе ряда психических расстройств, например депрессии [100], ПТСР [101] и шизофрении [102]. Так, например, довольно хорошо изученной на зебранию является модель gr^{s357} , у которой замена одного нуклеотида в гене глюкокортикоидного рецептора вызывает его дисфункцию путем инактивации транскрипции [103]. У gr^{s357} наблюдается повышенный уровень кортизола и экспрессии проопиомеланокортина (ПОМК; прекурсор адренокортикотропного гормона) и кортиколиберина, снижение исследовательской активности и увеличение тревожности, выявленной в тесте незнакомого аквариума, повышенная активность в тесте на реакцию избегания, а также нарушенная габитуация (привыкание) к стрессовым стимулам [103, 104]. При этом действие антидепрессанта флуоксетина (селективный ингибитор обратного захвата серотонина (СИОЗС)) нормализует данные параметры [103, 104]. Аналогично gr^{s357} , у зебранию с удаленным при помощи технологии CRISPR/Cas9 глюкокортикоидным рецептором ($gr^{-/-}$) наблюдается повышенный уровень кортизола в теле и экспрессии ПОМК и кортиколиберина в мозге [105].

При изучении СДВГ перспективной моделью является линия, мутантная по гену *period1b* (*per1b*), вовлеченному в циркадную активность. Данные рыбы гиперактивны, проявляют признаки повышенной агрессии в тесте предъявления зеркала, требуют больше времени для обучения в тесте активного избегания и более импульсивны в тесте на время реакции [106]. Множество других исследований, посвященных нейрогенетике зебранию, были опубликованы в последние годы, однако их подробное обсуждение выходит за пределы темы данной работы. Следует отметить, что данное направление активно развивается в мире и, учитывая относительную простоту генетической модификации зебранию, является перспективным направлением исследований как нейрофармакологии, так и изучения эволюционно-консервативных физиологических функций генов мозга.

НОВЫЕ КОНЦЕПЦИИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ

Моделирование стресса

Моделирование стрессорных расстройств возможно с использованием зебранию. Например, для формирования депрессивно-подобного фенотипа у зебранию разработан протокол хронического непредсказуемого стресса [107]. В течение нескольких недель животные несколько раз в день подвергаются различным стрессовым факторам [107], в том числе – низкий уровень воды в аквариуме, низкая температура воды, нарушение светового режима (сутки в темноте/сутки при включенном свете), сутки без пищи, контакт с хищником из естественной среды обитания (рыба-лист) и ряд других [107]. Стрессоры чередуются и предъявляются так, чтобы у животного не возникало адаптации к ним. Затем животные тестируются в поведенческих тестах для оценки уровня тревожности и формирования депрессивного фенотипа. Исследования показали, что хронический стресс существенно повышает показатели тревожности [30], а также закономерным образом повышает уровень кортизола [107]. Помимо этого было обнаружено, что у зебранию после хронического стрессирования повышен уровень экспрессии *bdnf* (brain-derived neurotrophic factor) [108] – нейротрофического фактора, который играет большую роль в обеспечении процессов синаптической пластичности и нейрогенеза. При этом у млекопитающих наблюдается обратная закономерность – снижение уровня экспрес-

сии *bdnf* [109–111]. Также у зебраданио после стресса наблюдается увеличение числа дендритных шипиков в конечном мозге [108], в то время как у млекопитающих наблюдается обратный процесс [112–114]. Интересен тот факт, что антидепрессанты из класса СИОЗС приводят количество шипиков к начальному уровню, уменьшая их количество у зебраданио и увеличивая у млекопитающих. Это говорит о возможно разной регуляции процессов нейропластичности зебраданио и человека. Раскрытие механизмов синаптической пластичности у зебраданио может стать основой для разработки нового подхода к терапии депрессии и сопутствующих расстройств.

Исследования с использованием непредсказуемого хронического стресса в течение 14 дней показали, что 155 генов в ЦНС зебраданио существенно меняют свою экспрессию [115]. Среди них гены, регулирующие процессы обучения и запоминания, например *cdk5* (cyclin-dependent kinase) и *chrna7*, участвующий в формировании никотиновых рецепторов холинергической системы. Помимо этого была выявлена нарушенная экспрессия генов, вовлеченных в развитие тревожных расстройств [116], например *EP* (ependymin) и *slc25a5* [117]. EP является нейротрофическим фактором, участвующим в процессах пластичности [118], а *slc25a5* (solute carrier family 25 member 5) связывают с развитием аутизма и болезнью Паркинсона [119, 120]. Уровень мРНК *slc25a5* оказался существенно повышен у рыб, демонстрирующих повышенную тревожность после воздействия хронического стресса [117].

Моделирование аутизма

При моделировании заболеваний ЦНС существует проблема отделения одной модели от другой, поскольку симптомы заболеваний и причины часто пересекаются. В качестве альтернативы можно использовать моделирование конкретного симптома или эндотипа, который необходимо исправить, а не синдром болезни в целом как таковой. Модели тревожности, депрессии и зависимостей на зебраданио на данный момент получили широкое распространение, в отличие от малоизвестных моделей аутизма и обсессивно-компульсивных состояний. Зебраданио отдает предпочтение организму своего вида, что позволяет измерять социальные дефициты посредством оценки расстояния между тестируемой рыбой и изображением ее конспецифика, особенно ввиду того, что зебраданио легко реагирует на подобные зрительные стимулы. Это важно для создания модели расстройств аутистического спектра (РАС). Другая парадигма исследует формирование косяка, оценивая его направление движения и среднее расстояние между рыбами. Тест ингибирования избегания используется для оценки эмоционального обучения и также применим к моделированию РАС. Например, в этом тесте отсек аквариума, который более привлекателен для рыб, связан с авersive стимулом. Измеряется задержка перед переходом в ранее предпочтительный отсек. Существует и самый простой вариант данной парадигмы – тест предъявления зеркала, недавно примененный в моделировании аутизма [121]. Дальнейшие исследования в области социального поведения зебраданио могут привести к появлению новых моделей аутизма зебраданио, анализируя облегчение обучения в группах [122] и установление групповой иерархии [123]. В процессе создания тестов для модели аутизма на зебраданио можно получить более широкий спектр инструментов для сравнительного анализа патогенеза между человеком и рыбой.

Стереотипия – еще один основной признак аутизма, который можно отследить у зебраданио с помощью 3D анализа поведения и использовать для выявления поведения, связанного с РАС, например кружение [124] или стереотипное открывание рта. РАС можно смоделировать на зебраданио и фармакологически (NMDA-антагонистом МК-801 [125] или антагонистом D1-рецептора SCH (23390 [126])). В качестве моделей РАС также изучалось воздействие различных токсинов на зеб-

раданию, например, пестицидов (хлорпирифос [127]) и загрязнителей (к примеру, водорастворимая фракция сырой нефти [124]). У зебрადанию около 67% генов, причастных к РАС, ортологичны человеческим. Мутация некоторых из этих генов используется для моделирования РАС на зебраданию. В частности, нокаут *fmr1*, наиболее хорошо описанный на зебраданию и имеющий прямое отношение к РАС, вызывает гиперактивность в тесте открытое поле и нарушения эмоционального обучения [128]. Существует также группа генов, вовлеченных в патогенез РАС, но охарактеризованных только у эмбрионов зебраданию. Например, в результате супрессии *kctd13* возникает макроцефалия и чрезмерная пролиферация нейронных предшественников у рыб [129], в то же время снижение экспрессии *auts2* уменьшает размеры головного мозга и количество нейронов [130]. Тем не менее, необходимы дальнейшие трансляционные исследования для выявления и анализа генов, связанных с РАС, в моделях зебраданию.

Моделирование шизофрении

Шизофрения – это хроническое и тяжелое психическое расстройство, патофизиология которого на данный момент остается плохо изученной. Для исследования фенотипов, связанных с шизофренией, и поиска препаратов для лечения данной патологии нужны экспериментальные модели на животных. Зебраданию, обладая сложным устойчивым поведением, высокой генетической и физиологической гомологией с людьми, а также проявляя чувствительность к препаратам, противостоящим или способствующим развитию шизофрении, становятся удобным инструментом для моделирования фенотипов, связанных с шизофренией. Однако у моделей зебраданию есть и четкие ограничения. Например, некоторые их гены имеют две копии вместо одной (как, например, у млекопитающих) из-за дополнительной дубликации генома у костистых рыб [131]. При изучении фенотипов шизофрении на любом новом модельном организме необходимо выявить индивидуальные поведенческие и физиологические эндофенотипы, которые повторяют соответствующие человеческие симптомы шизофрении. Например, изменения двигательной активности рыб, связанные с шизофренией, могут быть изучены в тесте незнакомого аквариума [48, 132]. Кроме того, как уже упоминалось, зебраданию достаточно социальны, поэтому тест построения косяка можно использовать для выявления социального дефицита, относящегося к социальной абстиненции, обычно наблюдаемой у пациентов с шизофренией. Этот тест также может быть чувствительным к поведенческим эффектам, возникающим под воздействием различных препаратов, которые, как известно, провоцируют психозы. Например, нарушение построения косяка (увеличение среднего расстояния между рыбами) происходит после пропсихотических галлюциногенных агентов диэтиламида лизергиновой кислоты (ЛСД), 3,4-метилendioксиметамфетамин (МДМА), кетамина, фенилциклидина или ибобаина [133, 134]. Также признаком шизофрении является усиление агрессивного поведения [135, 136], которое может быть изучено у зебраданию с использованием популярных парадигм агрессии, например, диадической конфронтации и теста зеркального отражения (предъявления зеркала) [137]. У пациентов с шизофренией также обычно наблюдаются когнитивные нарушения. Оценка преимпульсного ингибирования (ПИИ) (типичного для пациентов с шизофренией [138]) – один из методов оценки когнитивных фенотипов на животных моделях. На зебраданию ПИИ нарушается пропсихотическими препаратами апоморфином и кетамином, также как у людей и грызунов [139]. Для более подробного изучения когнитивного дефицита на зебраданию можно использовать другие парадигмы: дискриминация между двумя выборами, обратное обучение, условное избегание, неассоциативное обучение [48], тест Т-образного лабиринта [140] и габитуация (адаптация к среде, как

простейшая форма обучения) [141]. У эмбрионов зебраданио, подвергнутых нокдауну *disc1* и *nrg1* (гены, связанные с шизофренией [139]), наблюдается явная потеря нейронов в заднем мозге [142]. Супрессия другого гена, ассоциированного с шизофренией, регулятора передачи сигналов G-белка 4 (*rgs4*) [143], приводит к дефектам локомоции и нарушению роста аксонов в некоторых областях ЦНС, например, в заднем мозге, вероятно, из-за нарушения синаптической передачи сигналов, что дает возможность предполагать решающую роль регуляции G-белка при шизофрении [144]. Интересно, что у зебраданио с нокдауном генов *dlx1a/2a* и *dlx5a/6a* обнаруживается снижение количества ГАМКергических интернейронов в переднем мозге и более низкая экспрессия *gad* [145], что характерно при шизофрении [146, 147] и выявлялось как в клинических, так и в экспериментальных исследованиях на грызунах [147].

НОВЫЕ СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Скрининг и нейрофеномика

Доклинические исследования в области фармакологии являются одной из главных сфер, в которую зебраданио активно вовлечены. Это связано с простотой фармакологического воздействия на рыбу. Грызунам зачастую необходимо вводить фармакологические препараты с помощью инъекций (внутрибрюшинно или внутривенно), в то время как рыбы подвергаются действию веществ, растворенных в воде, через жаберное дыхание. Таким образом, вместо более трудоемкой процедуры инъекции зебраданио можно просто поместить в раствор какого-либо препарата, чтобы обеспечить фармакологическое воздействие, что не только упрощает процесс для исследователей, но и делает его менее инвазивным для животных. Помимо простоты манипуляций, данный подход позволяет тестировать большое количество веществ одновременно (высокопроизводительный скрининг, high-throughput screening). Мальки или взрослые рыбы в большом количестве могут быть посажены в резервуары с разными фармакологическими препаратами, в то время как их поведение будет записано с помощью видеокамер. Данный подход тяжело применить к грызунам в первую очередь по причине их больших размеров, а также в силу более сложных процедур по фармакологическому воздействию, что уже было описано выше. Таким образом, продуктивность скрининга фармакологических препаратов с использованием зебраданио гораздо выше, чем при использовании других модельных организмов.

Потенциал использования зебраданио

В целом, несмотря на очевидные ограничения, обсуждаемые далее, растущее число работ подчеркивает значительный потенциал исследований зебраданио в качестве модельного объекта для воспроизведения человеческих расстройств и для поиска новых фармакологических препаратов [23]. Хотя исследование препаратов на зебраданио сейчас активно внедряется в практику, в том числе и в России [148–152], моделирование заболеваний человека и их патофизиологическое описание требуют дальнейших усилий. Это, в свою очередь, требует дальнейшей поддержки от научного сообщества, университетов, правительства и фондов. Хотя многие исследователи представляют, что данный организм является всего лишь “упрощенной мышью”, основное преимущество которой состоит в ее экономичности, такое восприятие является обманчивым. Исследования на зебраданио также интересны с точки зрения изучения эволюционно-консервативных аспектов заболеваний ЦНС у позвоночных. Такой акцент на ключевые (наиболее консервативные среди видов) для заболевания молекулярные и физиологические биомаркеры может быть

особенно полезным для исследования высокогетерогенных заболеваний с неясным патогенезом и комплексной симптоматикой, такими как депрессия, шизофрения, обсессивно-компульсивное расстройство, РАС и др.

Несмотря на широкое использование животных для моделирования болезней человека, следует принимать во внимание тот факт, что ни один модельный организм не способен в точности воспроизвести особенности течения какого-либо человеческого заболевания [153–156]. При наличии множества схожих генетических и физиологических черт, физиологические процессы животных и людей существенно различаются как в норме, так и при патологии [157]. Говоря о зебраданио, следует отметить ряд физиологических и поведенческих особенностей, которые обязательно следует принимать во внимание при проведении нейробиологических исследований с использованием данного модельного организма. С точки зрения физиологии, важнейшей особенностью зебраданио и ее ЦНС является неразвитая кора, которая играет важнейшую роль в регуляции высших психических функций млекопитающих. По этой причине исследование сложных поведенческих реакций, присущих человеку, на зебраданио ограничено. Другим примером является разница в проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [15]. Принимая во внимание популярность зебраданио в фармакологических исследованиях, например, можно допустить, что некоторые препараты, неспособные легко пересечь человеческий ГЭБ, легче смогут проникнуть в ЦНС зебраданио [15].

Тем не менее, исследования на модельных организмах могут дать информацию об отдельных единицах патологического процесса, например, на уровне экспрессии конкретного гена, синтеза определенного белка в ткани или выработки гормона. Это делает их ценными, в то время как исследование данных процессов у человека, как правило, трудно реализуемы. Зебраданио, несмотря на большой филогенетический отрыв от человека, как и многие другие животные модели, способны стать ценным инструментом в биомедицинских исследованиях, результаты которых могут быть транслированы в клиническую практику.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, зебраданио является перспективным модельным организмом для исследований в области нейробиологии, в том числе трансляционных — направленных на максимально быстрый перенос научных результатов в клиническую практику. Прежде всего, это касается такой сферы, как нейро- и психофармакология. Зебраданио на данный момент является самым удобным объектом для тестирования потенциальных антидепрессантов, анксиолитиков, антипсихотиков и других терапевтических препаратов в силу своей дешевизны и небольших размеров, а также консервативности главных нейробиологических мишеней (гомологичные структуры мозга [17], нейротрансмиттеры и их рецепторы [158]) для методов терапии, актуальных для человека. Использование зебраданио позволяет проводить гораздо большее (чем на грызунах) количество исследований в единицу времени — как на мальках, так и на взрослых рыбах, благодаря чему сбор доказательной базы об эффективности или токсичности какого-либо препарата требует гораздо меньшего времени. Таким образом, пациенты имеют возможность получить необходимое им лечение быстрее, чем если бы испытания проводились на более крупных животных или же непосредственно на человеке. По этим же причинам крайне удобно использовать зебраданио для скрининга нейробиологических фенотипов генетических мутаций. Конечно, следует принимать во внимание то, что нельзя прямо транслировать терапевтические эффекты, полученные на зебраданио, на человека [157]. Тем не менее, клеточные и молекулярные механизмы патологии ЦНС и ее терапии вполне могут быть выявлены в рамках животных моде-

лей, в том числе зебраданию, и использованы для развития новых способов лечения тех или иных заболеваний мозга с учетом особенностей физиологии человека.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 19-15-00053 (АВК). КАД поддержан грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 18-34-00996, стипендией Президента Российской Федерации и специальной ректорской стипендией СПбГУ для аспирантов. Поддержка также осуществляется СПбГУ и Институтом экспериментальной медицины (Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова), г. Санкт-Петербург, Россия. Исследование проведено при поддержке Международного консорциума по нейробиологии зебраданию (ZNRC).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Singer P. Ethics and the limits of scientific freedom. *The Monist*. 79(2): 218–229. 1996.
2. Ladimer I. Ethical and legal aspects of medical research on human beings. *J. Pub. L.* 3: 467. 1954.
3. Franco N. Animal experiments in biomedical research: A historical perspective. *Animals*. 3(1): 238–273. 2013.
4. Plotkin S.L., Plotkin S.A. A short history of vaccination. *Vaccines*. 5: 1–16. 2004.
5. Zambrowicz B.P., Friedrich G.A. Comprehensive mammalian genetics: History and future prospects of gene trapping in the mouse. *Internat. J. Devel. Biol.* 42(7): 1025–1036. 2004.
6. Friese M.A., Montalban X., Willcox N., Bell J.I., Martin R., Fugger L. The value of animal models for drug development in multiple sclerosis. *Brain*. 129(8): 1940–1952. 2006.
7. Ruggeri B.A., Camp F., Miknyoczki S. Animal models of disease: Pre-clinical animal models of cancer and their applications and utility in drug discovery. *Biochem. Pharmacol.* 87(1): 150–161. 2014.
8. Kalueff A.V., Echevarria D.J., Homechaudhuri S., Stewart A.M., Collier A.D., Kaluyeva A.A., Li S., Liu Y., Chen P., Wang J. Zebrafish neurobehavioral phenomics for aquatic neuropharmacology and toxicology research. *Aquatic Toxicol.* 170: 297–309. 2016.
9. 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*. 4(1): 21–40. 2007.
10. Fishman M.C., Stainier D.Y., Breitbart R.E., Westerfield M., Zebrafish: Genetic and embryological methods in a transparent vertebrate embryo. In: *Methods in Cell Biology*. Elsevier. 67–82. 1997.
11. Dai Y.J., Jia Y.F., Chen N., Bian W.P., Li Q.K., Ma Y.B., Chen Y.L., Pei D.S. Zebrafish as a model system to study toxicology. *Environment. Toxicol. Chem.* 33(1): 11–17. 2014.
12. Lakstygal A.M., de Abreu M.S., Kalueff A.V. Zebrafish models of epigenetic regulation of CNS functions. *Brain Res. Bull.* 2018.
13. Dolgova N.V., Hackett M.J., MacDonald T.C., Nehzati S., James A.K., Krone P.H., George G.N., Pickering I. Distribution of selenium in zebrafish larvae after exposure to organic and inorganic selenium forms. *Metallomics*. 8(3): 305–312. 2016.
14. Li Q., Uitto J. Zebrafish as a model system to study skin biology and pathology. *The Journal of investigative dermatology*. 134(6): e21. 2014.
15. Kalueff A.V., Echevarria D.J., Stewart A.M. Gaining translational momentum: More zebrafish models for neuroscience research. Elsevier. 2014.
16. Tropepe V., Sive H.L. Can zebrafish be used as a model to study the neurodevelopmental causes of autism? *Genes, Brain and Behavior*. 2(5): 268–281. 2003.
17. Ganz J., Kroehne V., Freudenreich D., Machate A., Geffarth M., Braasch I., Kaslin J., Brand M. Subdivisions of the adult zebrafish pallium based on molecular marker analysis. *F1000Research*. 3. 2014.
18. Panula P., Chen Y.C., Priyadarshini M., Kudo H., Semenova S., Sundvik M., Sallinen V. The comparative neuroanatomy and neurochemistry of zebrafish CNS systems of relevance to human neuropsychiatric diseases. *Neurobiol. Dis.* 40(1): 46–57. 2010.
19. Schaaf M.J., Champagne D., van Laanen I.H., van Wijk D.C., Meijer A.H., Meijer O.C., Spink H.P., Richardson M.K. Discovery of a functional glucocorticoid receptor beta-isoform in zebrafish. *Endocrinology*. 149(4): 1591–1599. 2008.
20. Kalueff A.V., Gebhardt M., Stewart A.M., Cachat J.M., Brimmer M., Chawla J.S., Craddock C., Kyzar E.J., Roth A., Landsman S., Gaikwad S., Robinson K., Baatrup E., Tierney K., Shamchuk A., Norton W., Miller N., Nicolson T., Braubach O., Gilman C.P., Pittman J., Rosemberg D.B., Gerlai R., Echevarria D., Lamb E., Neuhauss S.C., Weng W., Bally-Cuif L., Schneider H., Zebrafish Neuroscience Research C. Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond. *Zebrafish*. 10(1): 70–86. 2013.
21. Orger M.B., de Polavieja G.G. Zebrafish Behavior: Opportunities and Challenges. *Annu. Rev. Neurosci.* 40: 125–147. 2017.
22. Kalueff A.V., Stewart A.M., Gerlai R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 35(2): 63–75. 2014.

23. Meshalkina D.A., Kysil E.V., Warnick J.E., Demin K.A., Kalueff A.V. Adult zebrafish in CNS disease modeling: A tank that's half-full, not half-empty, and still filling. *Lab Anim (NY)*. 46(10): 378–387. 2017.
24. Stewart A.M., Yang E., Nguyen M., Kalueff A.V. Developing zebrafish models relevant to PTSD and other trauma- and stressor-related disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 55: 67–79. 2014.
25. Lawrence C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*. 269(1–4): 1–20. 2007.
26. Stewart A., Kadri F., DiLeo J., Min Chung K., Cachat J., Goodspeed J., Suci C., Roy S., Gaikwad S., Wong K. The developing utility of zebrafish in modeling neurobehavioral disorders. *Internat. J. Compar. Psychol.* 23(1). 2010.
27. Maximino C., Marques de Brito T., Dias C. A., Gouveia A., Jr., Morato S. Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. *Nat. Protoc.* 5(2): 209–216. 2010.
28. Levin E.D., Bencan Z., Cerutti D.T. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. *Physiol. Behav.* 90(1): 54–58. 2007.
29. Grossman L., Utterback E., Stewart A., Gaikwad S., Chung K.M., Suci C., Wong K., Elegante M., Elkhayat S., Tan J., Gilder T., Wu N., Dileo J., Cachat J., Kalueff A.V. Characterization of behavioral and endocrine effects of LSD on zebrafish. *Behav. Brain Res.* 214(2): 277–284. 2010.
30. Egan R.J., Bergner C.L., Hart P.C., Cachat J.M., Canavello P.R., Elegante M.F., Elkhayat S.I., Bartels B.K., Tien A.K., Tien D.H. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. *Behav. Brain Res.* 205(1): 38–44. 2009.
31. Wong K., Elegante M., Bartels B., Elkhayat S., Tien D., Roy S., Goodspeed J., Suci C., Tan J., Grimes C., Chung A., Rosenberg M., Gaikwad S., Denmark A., Jackson A., Kadri F., Chung K.M., Stewart A., Gilder T., Beeson E., Zapolsky I., Wu N., Cachat J., Kalueff V. Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (*Danio rerio*). *Behav. Brain Res.* 208(2): 450–457. 2010.
32. Stewart A., Wong K., Cachat J., Gaikwad S., Kyzar E., Wu N., Hart P., Piet V., Utterback E., Elegante M., Tien D., Kalueff A. V. Zebrafish models to study drug abuse-related phenotypes. *Rev. Neurosci.* 22(1): 95–105. 2011.
33. Bencan Z., Sledge D., Levin E. D. Buspirone, chlordiazepoxide and diazepam effects in a zebrafish model of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 94(1): 75–80. 2009.
34. Cachat J., Stewart A., Grossman L., Gaikwad S., Kadri F., Chung K.M., Wu N., Wong K., Roy S., Suci C. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult zebrafish. *Nat. Protocols*. 5(11): 1786. 2010.
35. Maximino C., de Brito T.M., Colmanetti R., Pontes A.A., de Castro H.M., de Lacerda R.I., Morato S., Gouveia A., Jr. Parametric analyses of anxiety in zebrafish scototaxis. *Behav. Brain Res.* 210(1): 1–7. 2010.
36. Stewart A., Maximino C., De Brito T.M., Herculano A.M., Gouveia A., Morato S., Cachat J.M., Gaikwad S., Elegante M.F., Hart P.C. Neurophenotyping of adult zebrafish using the light/dark box paradigm, in *Zebrafish neurobehavioral protocols*. Springer. 157–167. 2011.
37. Serra E., Medalha C., Mattioli R. Natural preference of zebrafish (*Danio rerio*) for a dark environment. *Brazil J. Med. Biol. Res.* 32(12): 1551–1553. 1999.
38. Pham M., Raymond J., Hester J., Kyzar E., Gaikwad S., Bruce I., Fryar C., Chanin S., Enriquez J., Bagawandoss S. Assessing social behavior phenotypes in adult zebrafish: Shoaling, social preference, and mirror biting tests, in *Zebrafish protocols for neurobehavioral research*. Springer. 231–246. 2012.
39. Miller N., Gerlai R. Quantification of shoaling behaviour in zebrafish (*Danio rerio*). *Behav. Brain Res.* 184(2): 157–166. 2007.
40. Wright D., Rimmer L.B., Pritchard V.L., Krause J., Butlin R.K. Inter and intra-population variation in shoaling and boldness in the zebrafish (*Danio rerio*). *Naturwissenschaften*. 90(8): 374–377. 2003.
41. Ruhl N., McRobert S. The effect of sex and shoal size on shoaling behaviour in *Danio rerio*. *J. Fish Biol.* 67(5): 1318–1326. 2005.
42. Engeszer R.E., Ryan M.J., Parichy D.M. Learned social preference in zebrafish. *Curr. Biol.* 14(10): 881–884. 2004.
43. 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. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 67(4): 773–782. 2000.
44. Moretz J.A., Martins E.P., Robison B.D. Behavioral syndromes and the evolution of correlated behavior in zebrafish. *Behav. Ecol.* 18(3): 556–562. 2007.
45. Ariyomo T.O., Watt P.J. The effect of variation in boldness and aggressiveness on the reproductive success of zebrafish. *Animal Behav.* 83(1): 41–46. 2012.
46. Bass S.L., Gerlai R. Zebrafish (*Danio rerio*) responds differentially to stimulus fish: The effects of sympatric and allopatric predators and harmless fish. *Behav. Brain Res.* 186(1): 107–117. 2008.
47. Gerlai R. Zebrafish antipredatory responses: A future for translational research? *Behav. Brain Res.* 207(2): 223–231. 2010.
48. Daggett J. Evaluation and characterisation of two zebrafish models of schizophrenia. University of St Andrews. 2016.

49. Kalueff A.V. Illustrated Zebrafish Neurobehavioral Glossary. In: The rights and wrongs of zebrafish: Behavioral phenotyping of zebrafish. Kalueff A.V. (Editor). Springer Internat. Publi.: Cham. 291–317. 2017.
50. Cachat J., Stewart A., Grossman L., Gaikwad S., Kadri F., Chung K.M., Wu N., Wong K., Roy S., Suciu C., Goodspeed J., Elegante M., Bartels B., Elkhayat S., Tien D., Tan J., Denmark A., Gilder T., Kyzar E., Dileo J., Frank K., Chang K., Utterback E., Hart P., Kalueff A.V. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult zebrafish. *Nat. Protoc.* 5(11): 1786–1799. 2010.
51. Cognato G.d.P., Bortolotto J.W., Blazina A.R., Christoff R.R., Lara D.R., Vianna M.R., Bonan C.D. Y-Maze memory task in zebrafish (*Danio rerio*): The role of glutamatergic and cholinergic systems on the acquisition and consolidation periods. *Neurobiol. Learn. Memory.* 98(4): 321–328. 2012.
52. Sison M., Gerlai R. Associative learning in zebrafish (*Danio rerio*) in the plus maze. *Behav. Brain Res.* 207(1): 99–104. 2010.
53. Echevarria D.J., Jouandot D.J., Toms C.N. Assessing attention in the zebrafish: Are we there yet? *Progress Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 35(6): 1416–1420. 2011.
54. Cachat J., Stewart A., Utterback E., Hart P., Gaikwad S., Wong K., Kyzar E., Wu N., Kalueff A.V. Three-dimensional neurophenotyping of adult zebrafish behavior. *PloS One.* 6(3): e17597. 2011.
55. Blaser R.E., Roseberg D.B. Measures of anxiety in zebrafish (*Danio rerio*): Dissociation of black/white preference and novel tank test. *PloS One.* 7(5): e36931. 2012.
56. Stewart A.M., Grieco F., Tegelenbosch R.A., Kyzar E.J., Nguyen M., Kaluyeva A., Song C., Noldus L.P., Kalueff A.V. A novel 3D method of locomotor analysis in adult zebrafish: Implications for automated detection of CNS drug-evoked phenotypes. *J. Neurosci. Methods.* 255: 66–74. 2015.
57. Deisseroth K. Optogenetics. *Nat. Methods.* 8(1): 26. 2011.
58. Pastrana E. Optogenetics: Controlling cell function with light. *Nat. Methods.* 8(1): 24. 2010.
59. Baier H., Scott E.K. Genetic and optical targeting of neural circuits and behavior—zebrafish in the spotlight. *Current Opin. Neurobiol.* 19(5): 553–560. 2009.
60. Cao P., Sun W., Kramp K., Zheng M., Salom D., Jastrzebska B., Jin H., Palczewski K., Feng Z. Light-sensitive coupling of rhodopsin and melanopsin to Gi/o and Gq signal transduction in *Caenorhabditis elegans*. *The FASEB J.* 26(2): 480–491. 2012.
61. Schobert B., Lanyi J.K., Cragoe E. Evidence for a halide-binding site in halorhodopsin. *J. Biol. Chem.* 258(24): 15158–15164. 1983.
62. Duebel J., Marazova K., Sahel J.-A. Optogenetics. *Curr. Opinion Ophthalmol.* 26(3): 226. 2015.
63. Simmich J., Staykov E., Scott E. Zebrafish as an appealing model for optogenetic studies. In: *Progress in brain research.* Elsevier. 145–162. 2012.
64. Kimura Y., Hisano Y., Kawahara A., Higashijima S.-i. Efficient generation of knock-in transgenic zebrafish carrying reporter/driver genes by CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *Scient. Reports.* 4: 6545. 2014.
65. Nihongaki Y., Kawano F., Nakajima T., Sato M. Photoactivatable CRISPR-Cas9 for optogenetic genome editing. *Nat. Biotechnol.* 33(7): 755. 2015.
66. Kumar A., Pareek V., Raza K., Kumar P., Faij M.A., Dantham S. Induction—reversal modeling of psychiatric disorders by functional manipulation of habenular pathways in zebrafish. *Neurology, Psychiatry and Brain Res.* 24: 1–8. 2017.
67. Schoonheim P.J., Arrenberg A.B., Del Bene F., Baier H. Optogenetic localization and genetic perturbation of saccade-generating neurons in zebrafish. *J. Neurosci.* 30(20): 7111–7120. 2010.
68. Arrenberg A.B., Del Bene F., Baier H. Optical control of zebrafish behavior with halorhodopsin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106(42): 17968–17973. 2009.
69. Douglass A.D., Kraves S., Deisseroth K., Schier A.F., Engert F. Escape behavior elicited by single, channelrhodopsin-2-evoked spikes in zebrafish somatosensory neurons. *Curr. Biol.* 18(15): 1133–1137. 2008.
70. Wyart C., Del Bene F., Warp E., Scott E.K., Trauner D., Baier H., Isacoff E.Y. Optogenetic dissection of a behavioural module in the vertebrate spinal cord. *Nature.* 461(7262): 407. 2009.
71. Tomura M., Yoshida N., Tanaka J., Karasawa S., Miwa Y., Miyawaki A., Kanagawa O. Monitoring cellular movement in vivo with photoconvertible fluorescence protein “Kaede” transgenic mice. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 105(31): 10871–10876. 2008.
72. Portugues R., Severi K.E., Wyart C., Ahrens M.B. Optogenetics in a transparent animal: Circuit function in the larval zebrafish. *Curr. Opinion neurobiol.* 23(1): 119–126. 2013.
73. Higashijima S.-i., Masino M.A., Mandel G., Fetcho J.R. Imaging neuronal activity during zebrafish behavior with a genetically encoded calcium indicator. *J. Neurophysiol.* 90(6): 3986–3997. 2003.
74. Brustein E., Marandi N., Kovalchuk Y., Drapeau P., Konnerth A. “In vivo” monitoring of neuronal network activity in zebrafish by two-photon Ca^{2+} imaging. *Pflügers Archiv.* 446(6): 766–773. 2003.
75. Perez C.C., Lauri A., Symvoulidis P., Cappetta M., Erdmann A., Westmeyer G.G. Calcium neuroimaging in behaving zebrafish larvae using a turn-key light field camera. *J. Biomed. Optics.* 20(9): 096009. 2015.
76. Naumann E.A., Kampff A.R., Prober D.A., Schier A.F., Engert F. Monitoring neural activity with bioluminescence during natural behavior. *Nat. Neurosci.* 13(4): 513. 2010.
77. Kim D.H., Kim J., Marques J.C., Grama A., Hildebrand D.G., Gu W., Li J.M., Robson D.N. Pan-neuronal calcium imaging with cellular resolution in freely swimming zebrafish. *Nat. Methods.* 14(11): 1107. 2017.

78. Ritter D.A., Bhatt D.H., Fetcho J.R. In vivo imaging of zebrafish reveals differences in the spinal networks for escape and swimming movements. *J. Neurosci.* 21(22): 8956–8965. 2001.
79. Deán-Ben X.L., Gottschalk S., Sela G., Shoham S., Razansky D. Functional optoacoustic neurotomography of calcium fluxes in adult zebrafish brain in vivo. *Optics Letters.* 42(5): 959–962. 2017.
80. Barbazuk W.B., Korf I., Kadavi C., Heyen J., Tate S., Wun E., Bedell J.A., McPherson J.D., Johnson S.L. The syntenic relationship of the zebrafish and human genomes. *Genome Res.* 10(9): 1351–1358. 2000.
81. Vogel A.M., Weinstein B.M. Studying vascular development in the zebrafish. *Trends in Cardiovasc. Medicine.* 10(8): 352–360. 2000.
82. Sager J.J., Bai Q., Burton E.A. Transgenic zebrafish models of neurodegenerative diseases. *Brain Struct. Function.* 214 (2–3): 285–302. 2010.
83. Gray C., Loynes C.A., Whyte M.K., Crossman D.C., Renshaw S.A., Chico T.J. Simultaneous intravital imaging of macrophage and neutrophil behaviour during inflammation using a novel transgenic zebrafish. *Thrombosis and Haemostasis.* 105 (05): 811–819. 2011.
84. Santoriello C., Zon L.I. Hooked! Modeling human disease in zebrafish. *J. Clin. Investig.* 122(7): 2337–2343. 2012.
85. Li M., Zhao L., Page-McCaw P.S., Chen W. Zebrafish genome engineering using the CRISPR–Cas9 system. *Trends in Genetics.* 32(12): 815–827. 2016.
86. Lawson N.D. Reverse genetics in zebrafish: Mutants, morphants, and moving forward. *Trends in Cell Biol.* 26(2): 77–79. 2016.
87. Laakso A., Bergman J., Haaparanta M., Vilkmann H., Solin O., Syvälahti E., Hietala J. Decreased striatal dopamine transporter binding in vivo in chronic schizophrenia. *Schizophr. Res.* 52(1–2): 115–120. 2001.
88. Seeman P., Guan H.-C., Van Tol H.H. Dopamine D4 receptors elevated in schizophrenia. *Nature.* 365 (6445): 441. 1993.
89. Mackay A.V., Iversen L.L., Rossor M., Spokes E., Bird E., Arregui A., Creese I., Snyder S.H. Increased brain dopamine and dopamine receptors in schizophrenia. *Archives Gener. Psychiatry.* 39(9): 991–997. 1982.
90. Levy F. The dopamine theory of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Austral. & New Zealand J. Psychiatry.* 25(2): 277–283. 1991.
91. Wang G., Zhang G., Li Z., Fawcett C.H., Coble M., Sosa M.X., Tsai T., Malesky K., Thibodeaux S.J., Zhu P. Abnormal Behavior of Zebrafish Mutant in Dopamine Transporter Is Rescued by Clozapine. *Science.* 17: 325–333. 2019.
92. Aguilera G. HPA axis responsiveness to stress: implications for healthy aging. *Exp. Gerontol.* 46(2–3): 90–95. 2011.
93. Pariante C.M., Lightman S.L. The HPA axis in major depression: Classical theories and new developments. *Trends in Neurosci.* 31(9): 464–468. 2008.
94. Canavello P.R., Cachat J.M., Beeson E.C., Laffoon A.L., Grimes C., Haymore W.A., Elegante M.F., Bartels B.K., Hart P.C., Elkhayat S.I. Measuring endocrine (cortisol) responses of zebrafish to stress, in Zebrafish neurobehavioral protocols. Springer. 135–142. 2011.
95. Young A.H. Cortisol in mood disorders. *Stress.* 7(4): 205–208. 2004.
96. Levine A., Zagoory-Sharon O., Feldman R., Lewis J.G., Weller A. Measuring cortisol in human psychobiological studies. *Physiol. & Behavior.* 90(1): 43–53. 2007.
97. McEwen B.S., Stellar E. Stress and the individual: Mechanisms leading to disease. *Arch. Intern. Med.* 153(18): 2093–2101. 1993.
98. Bremner J.D. Does stress damage the brain? *Biol. Psychiatry.* 45(7): 797–805. 1999.
99. Claes S. Corticotropin-releasing hormone (CRH) in psychiatry: From stress to psychopathology. *Ann. Med.* 36(1): 50–61. 2004.
100. Pittenger C., Duman R.S. Stress, depression, and neuroplasticity: A convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology.* 33(1): 88. 2008.
101. Yehuda R. Biology of posttraumatic stress disorder. *J. Clin. Psychiatry.* 2001.
102. Corcoran C., Walker E., Huot R., Mittal V., Tessner K., Kestler L., Malaspina D. The stress cascade and schizophrenia: Etiology and onset. *Schizophr. Bull.* 29(4): 671–692. 2003.
103. Ziv L., Muto A., Schoonheim P.J., Meijising S.H., Strasser D., Ingraham H.A., Schaaf M.J., Yamamoto K.R., Baier H. An affective disorder in zebrafish with mutation of the glucocorticoid receptor. *Mol. Psychiatry.* 18(6): 681. 2013.
104. Griffiths 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. *Front. Behav. Neurosci.* 6: 68. 2012.
105. Facchinello N., Skobo T., Meneghetti G., Colletti E., Dinarello A., Tiso N., Costa R., Gioacchini G., Carnevali O., Argenton F. nr3c1 null mutant zebrafish are viable and reveal DNA-binding-independent activities of the glucocorticoid receptor. *Scient. Reports.* 7(1): 4371. 2017.
106. Huang J., Zhong Z., Wang M., Chen X., Tan Y., Zhang S., He W., He X., Huang G., Lu H. Circadian modulation of dopamine levels and dopaminergic neuron development contributes to attention deficiency and hyperactive behavior. *J. Neurosci.* 35(6): 2572–2587. 2015.
107. Piato Á.L., Capiotti K.M., Tamborski A.R., Osés J.P., Barcellos L.J., Bogo M.R., Lara D.R., Vianna M.R., Bonan C.D. Unpredictable chronic stress model in zebrafish (*Danio rerio*): Behav-

- ioral and physiological responses. *Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 35(2): 561–567. 2011.
108. Song C., Liu B.-P., Zhang Y.-P., Peng Z., Wang J., Collier A.D., Echevarria D.J., Savelieva K.V., Lawrence R.F., Rex C.S. Modeling consequences of prolonged strong unpredictable stress in zebrafish: Complex effects on behavior and physiology. *Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 81: 384–394. 2018.
 109. Jesse C., Donato F., Giacomeli R., Del Fabbro L., da Silva Antunes M., de Gomes M., Goes A., Boeira S., Prigol M., Souza L. Chronic unpredictable mild stress decreases BDNF and NGF levels and Na⁺, K⁺-ATPase activity in the hippocampus and prefrontal cortex of mice: Anti-depressant effect of chrysin. *Neuroscience*. 289: 367–380. 2015.
 110. Murakami S., Imbe H., Morikawa Y., Kubo C., Senba E. Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly. *Neurosci. Res.* 53(2): 129–139. 2005.
 111. Granli J., Bramham C., Murison R., Kanhema T., Fiske E., Bjorvatn B., Ursin R., Portas C.M. Chronic mild stress inhibits BDNF protein expression and CREB activation in the dentate gyrus but not in the hippocampus proper. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 85(4): 842–849. 2006.
 112. Radley J.J., Rocher A.B., Miller M., Janssen W.G., Liston C., Hof P.R., McEwen B.S., Morrison J.H. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cerebr. Cortex*. 16(3): 313–320. 2005.
 113. Radley J.J., Rocher A.B., Rodriguez A., Ehlenberger D.B., Dammann M., McEwen B.S., Morrison J.H., Wearne S.L., Hof P.R. Repeated stress alters dendritic spine morphology in the rat medial prefrontal cortex. *J. Compar. Neurology*. 507(1): 1141–1150. 2008.
 114. Chen Y., Dubé C.M., Rice C.J., Baram T.Z. Rapid loss of dendritic spines after stress involves derangement of spine dynamics by corticotropin-releasing hormone. *J. Neurosci.* 28(11): 2903–2911. 2008.
 115. Huang Y., Butler A.A., Lubin F.D. Telencephalon transcriptome analysis of chronically stressed adult zebrafish. *Scient. Reports*. 9(1): 1379. 2019.
 116. Ebner R., Ruben S.M., Human ependymin. Google Patents. 2002.
 117. Chakravarty S., Reddy B.R., Sudhakar S.R., Saxena S., Das T., Meghah V., Swamy C.V.B., Kumar A., Idris M.M. Chronic unpredictable stress (CUS)-induced anxiety and related mood disorders in a zebrafish model: Altered brain proteome profile implicates mitochondrial dysfunction. *PLoS One*. 8(5): e63302. 2013.
 118. Shashoua V.E. Ependymin, a Brain Extracellular Glycoprotein, and CNS Plasticity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 627(1): 94–114. 1991.
 119. Golla S., Evans P. Metabolic and genetic causes of autism, in rosenberg’s molecular and genetic basis of neurological and psychiatric disease. Elsevier. 209-217. 2015.
 120. Vahedi S., Rajabian M., Misaghian A., Grbec D., Simon H.H., Alavian K.N. Parkinson’s disease candidate gene prioritization based on expression profile of midbrain dopaminergic neurons. *J. Biomed. Sci.* 17(1): 66. 2010.
 121. Zimmermann F.F., Gaspary K.V., Leite C.E., Cognato G.D.P., Bonan C.D. Embryological exposure to valproic acid induces social interaction deficits in zebrafish (*Danio rerio*): A developmental behavior analysis. *Neurotoxicol. Teratol.* 52: 36–41. 2015.
 122. Lindeyer C.M., Reader S.M. Social learning of escape routes in zebrafish and the stability of behavioural traditions. *Animal Behav.* 79(4): 827–834. 2010.
 123. Butail S., Mwaffo V., Porfiri M. Model-free information-theoretic approach to infer leadership in pairs of zebrafish. *Phys. Rev. E*. 93(4): 042411. 2016.
 124. Wang Y., Zhong H., Wang C., Gao D., Zhou Y., Zuo Z. Maternal exposure to the water soluble fraction of crude oil, lead and their mixture induces autism-like behavioral deficits in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Ecotoxicol. Environmental Safety*. 134: 23–30. 2016.
 125. Maaswinkel H., Zhu L., Weng W. Assessing social engagement in heterogeneous groups of zebrafish: A new paradigm for autism-like behavioral responses. *PLoS One*. 8(10): e75955. 2013.
 126. Scerbina T., Chatterjee D., Gerlai R. Dopamine receptor antagonism disrupts social preference in zebrafish: A strain comparison study. *Amino Acids*. 43(5): 2059–2072. 2012.
 127. 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. *Neurotoxicol. Teratol.* 32(1): 99–108. 2010.
 128. Ng M.-C., Yang Y.-L., Lu K.-T. Behavioral and synaptic circuit features in a zebrafish model of fragile X syndrome. *PLoS One*. 8(3): e51456. 2013.
 129. Golzio C., Willer J., Talkowski M.E., Oh E.C., Taniguchi Y., Jacquemont S., Raymond A., Sun M., Sawa A., Gusella J.F. KCTD13 is a major driver of mirrored neuroanatomical phenotypes of the 16p11.2 copy number variant. *Nature*. 485(7398): 363. 2012.
 130. Oksenberg N., Stevison L., Wall J.D., Ahituv N. Function and regulation of AUTS2, a gene implicated in autism and human evolution. *PLoS Genetics*. 9(1): e1003221. 2013.
 131. Howe K., Clark M.D., Torroja C.F., Torrance J., Berthelot C., Muffato M., Collins J.E., Humphray S., McLaren K., Matthews L. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*. 496(7446): 498. 2013.

132. Wang L., Jiang W., Lin Q., Zhang Y., Zhao C. DNA methylation regulates gabrb2 mRNA expression: developmental variations and disruptions in l-methionine-induced zebrafish with schizophrenia-like symptoms. *Genes, Brain and Behavior*. 15(8): 702–710. 2016.
133. Cachat J., Kyzar E.J., Collins C., Gaikwad S., Green J., Roth A., El-Ounsi M., Davis A., Pham M., Landsman S. Unique and potent effects of acute ibogaine on zebrafish: The developing utility of novel aquatic models for hallucinogenic drug research. *Behav. Brain Res*. 236: 258–269. 2013.
134. Kyzar E.J., Collins C., Gaikwad S., Green J., Roth A., Monnig L., El-Ounsi M., Davis A., Freeman A., Capezio N. Effects of hallucinogenic agents mescaline and phencyclidine on zebrafish behavior and physiology. *Progress in Neuro-Psychopharmacol. and Biol. Psychiatry*. 37(1): 194–202. 2012.
135. Association A. P. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®). Am. Psychiatric Pub. 2013.
136. O'Reilly K., Donohoe G., Coyle C., O'Sullivan D., Rowe A., Losty M., McDonagh T., McGuinness L., Ennis Y., Watts E. Prospective cohort study of the relationship between neuro-cognition, social cognition and violence in forensic patients with schizophrenia and schizoaffective disorder. *BMC Psychiatry*. 15(1): 155. 2015.
137. Zimmermann F.F., Gaspary K.V., Siebel A.M., Bonan C.D. Oxytocin reversed MK-801-induced social interaction and aggression deficits in zebrafish. *Behav. Brain Res*. 311: 368–374. 2016.
138. Braff D., Schork N.J., Gottesman I.I. Endophenotyping schizophrenia. *Am. Psychiatr. Assoc.* 2007
139. Norton W.H.J. Toward developmental models of psychiatric disorders in zebrafish. *Front. Neural Circuits*. 7: 79. 2013.
140. Wang L., Jiang W., Lin Q., Zhang Y., Zhao C. DNA methylation regulates gabrb2 mRNA expression: Developmental variations and disruptions in l-methionine-induced zebrafish with schizophrenia-like symptoms. *Genes Brain Behav*. 15(8): 702–710. 2016.
141. Thyme S., Li E., Pieper L. SU97. Zebrafish Brain Activity Phenotypes Unify Schizophrenia-Associated Genes. *Schizophr. Bull.* 43(suppl_1): S196–S196. 2017.
142. Wood J.D., Bonath F., Kumar S., Ross C.A., Cunliffe V.T. Disrupted-in-schizophrenia 1 and neuregulin 1 are required for the specification of oligodendrocytes and neurones in the zebrafish brain. *Human Mol. Genetics*. 18(3): 391–404. 2008.
143. Harrison P.J., Weinberger D.R. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: On the matter of their convergence. *Mol. Psychiatry*. 10(1): 40. 2005.
144. Cheng Y.-C., Scotting P.J., Hsu L.-S., Lin S.-J., Shih H.-Y., Hsieh F.-Y., Wu H.-L., Tsao C.-L., Shen C.-J. Zebrafish rgs4 is essential for motility and axonogenesis mediated by Akt signaling. *Cell. Mol. Life Sci*. 70(5): 935–950. 2013.
145. Solek C.M., Feng S., Perin S., Mendes H.W., Ekker M. Lineage tracing of dlx1a/2a and dlx5a/6a expressing cells in the developing zebrafish brain. *Development*. Biol. 427(1): 131–147. 2017.
146. Di Cristo G. Development of cortical GABAergic circuits and its implications for neurodevelopmental disorders. *Clin. Genetics*. 72(1): 1–8. 2007.
147. Hashimoto T., Volk D.W., Eggan S.M., Mirnics K., Pierri J.N., Sun Z., Sampson A.R., Lewis D.A. Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *J. Neurosci*. 23(15): 6315–6326. 2003.
148. Demin K.A., Kolesnikova T.O., Khatsko S.L., Meshalkina D.A., Efimova E.V., Morzherin Y.Y., Kalueff A.V. Acute effects of amitriptyline on adult zebrafish: Potential relevance to antidepressant drug screening and modeling human toxidromes. *Neurotoxicol. Teratol*. 62: 27–33. 2017.
149. Meshalkina D.A., Kysil E.V., Antonova K.A., Demin K.A., Kolesnikova T.O., Khatsko S.L., Gainetdinov R.R., Alekseeva P.A., Kalueff A.V. The Effects of Chronic Amitriptyline on Zebrafish Behavior and Monoamine Neurochemistry. *Neurochem Res*. 2018.
150. 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. *Neurotoxicol. Teratol*. 59: 62–67. 2017.
151. Kolesnikova T.O., Khatsko S.L., Eltsov O.S., Shevyrin V.A., Kalueff A.V. When fish take a bath: Psychopharmacological characterization of the effects of a synthetic cathinone bath salt 'flakka' on adult zebrafish. *Neurotoxicol. Teratol*. 73: 15–21. 2019.
152. 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 феназепам. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 15(3). 2017. [Shabanov P.D., Lebedev V.A., Lebedev A.A., Bychkov E.R. Vliyaniye stressa novizny na povedencheskie otvety *Danio rerio* i ocenka dozozavisimyh effektov anksiolitikov benzodiazepinovogo ryada na primere fenazepam. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 15(3). 2017 (In Russ.).]
153. Williams S.M., Haines J.L., Moore J.H. The use of animal models in the study of complex disease: All else is never equal or why do so many human studies fail to replicate animal findings? *Bioessays*. 26(2): 170–179. 2004.
154. Seok J., Warren H.S., Cuenca A.G., Mindrinos M.N., Baker H.V., Xu W., Richards D.R., McDonald-Smith G.P., Gao H., Hennessy L. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.* 110(9): 3507–3512. 2013.

155. Alini M., Eisenstein S.M., Ito K., Little C., Kettler A.A., Masuda K., Melrose J., Ralphs J., Stokes I., Wilke H.J. Are animal models useful for studying human disc disorders/degeneration? *Eur. Spine J.* 17(1): 2–19. 2008.
156. Kapourchali F.R., Gangadaran Surendiran L.C., Uitz E., Bahadori B., Moghadasian M.H. Animal models of atherosclerosis. *World J. Clin. Cases: WJCC.* 2(5): 126. 2014.
157. Van der Worp H.B., Howells D.W., Sena E.S., Porritt M.J., Rewell S., O'Collins V., Macleod M.R. Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS Medicine.* 7(3): e1000245. 2010.
158. Rico E., Rosemberg D., Seibt K., Capiotti K., Da Silva R., Bonan C. Zebrafish neurotransmitter systems as potential pharmacological and toxicological targets. *Neurotoxicol. Teratol.* 33(6): 608–617. 2011.

Zebrafish as a New Perspective Model in Translational Neurobiology

N. A. Krotova^{a, b}, A. M. Lakstygala^{b, c}, A. S. Taranov^b, N. P. Ilyin^b, M. V. Bytov^f,
A. D. Volgin^{b, d}, T. G. Amstislavskaya^d, K. A. Demin^{a, b, *,}, A. V. Kaluev^{a, b, c, d, e, f, g, h, **,}

^a*Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre, Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia*

^b*Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

^c*Granov Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies, Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia*

^d*Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia*

^e*School of Pharmacy, Southwest University, Chongqing, China*

^f*Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia*

^g*ZENEREI Institute, Slidell, LA, USA*

^h*The International Stress and Behavior Society (ISBS), US HQ, New Orleans, LA, USA*

*e-mail: deminkasci@gmail.com

**e-mail: avkalueff@gmail.com

Abstract—*Danio rerio* (zebrafish) is a relatively new model subject that is widely used in biomedicine, including studies of the central nervous system (CNS) and searching for new therapeutic agents. The number of studies dedicated to the zebrafish neurobiology is rapidly increasing, and this growth surpasses in relative numbers all other model organisms in the biomedical field. The popularity of this model is ensured by the relative ease of use, thoroughly studied physiology, high genetic homology with humans, fast development, and low cost of the studies. Here, we discuss the current role of zebrafish in the field of translational neuroscience, and their potential use in combination with the recent biological techniques. Despite the fact that the screening and description of the effects of known psychoactive compounds on zebrafish becomes actively adopted for practical use (in Russia as well), the studies of brain diseases on this model remain limited. We outline the importance of the studies of CNS pathogenesis in the zebrafish due to its high potential as a study subject that is evolutionally conservative and relatively easy to use, which can facilitate the identification of the main biomarkers of the heterogeneous brain diseases.

Keywords: *Danio rerio*, zebrafish, translational biomedicine, neurobiology, disease modeling

ЦИТИРОВАТЬ:

Кротова Н.А., Лакстыгал А.М., Таранов А.С., Ильин Н.П., Бытов М.В., Волгин А.Д., Амстиславская Т.Г., Демин К.А., Калуев А.В. Зебраданио (zebrafish) как новая перспективная модель в трансляционной нейробиологии. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 105(11): 1417–1435.

DOI: 10.1134/S0869813919110062

TO CITE THIS ARTICLE:

Krotova N.A., Lakstygala A.M., Taranov A.S., Ilyin N.P., Bytov M.V., Volgin A.D., Amstislavskaya T.G., Demin K.A., Kaluev A.V. Zebrafish as a New Perspective Model in Translational Neurobiology. *Russian Journal of Physiology.* 105(11): 1417–1435.

DOI: 10.1134/S0869813919110062