

УДК 616-092.9

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn501442>

Научная статья



Сравнение анксиолитического действия кисспептинов млекопитающих и костистых рыб у *Danio rerio*

В.А. Гольц¹, А.А. Лебедев¹, А.А. Блаженко¹, В.А. Лебедев¹, А.А. Байрамов^{1, 2}, П.П. Хохлов¹,
Е.Р. Бычков¹, С.С. Пюрвеев¹, С.В. Казаков¹, П.Д. Шабанов¹

¹ Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

² Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность. Ранее нами было высказано предположение, что аналоги кисспептина Kiss1 млекопитающих снижают тревожно-фобические реакции на новизну у *Danio rerio*. Наиболее эффективная доза для действия изученных аналогов кисспептина соответствовала 0,1 мг на 1000 мл воды в тесте новизны.

Цель — показать, что другой аналог кисспептина Kiss1 млекопитающих, KS6, в дозе 0,1 мг также снижал тревожное поведение рыбок *Danio rerio*.

Материалы и методы. Оценивалось действие кисспептинов костистых рыб Kiss1 и Kiss2 на поведение *Danio rerio* в тесте новизны.

Результаты. В тесте новизны выявлено, что количество фризингов на фоне введения кисспептина 10 снижалось в 2 раза, после введения аналога кисспептина — в 3 раза. Аналог кисспептина млекопитающих снижал время фризингов в 2 раза. Длина траектории снижалась под воздействием аналога кисспептина Kiss1 млекопитающих в 2 раза. Также на фоне действия кисспептина 10 в 2 раза увеличивалось число переходов в верхнюю часть аквариума, после введения аналога кисспептина — в 3 раза. В тесте с хищником число и время фризингов сокращались на фоне действия кисспептинов млекопитающих в 1,5 раза. Длина траектории после введения кисспептинов костистых рыб и кисспептина 10 млекопитающих увеличивалась. Длина траектории после введения Kiss1 увеличивалась в 1,5 раза, после введения Kiss2 — в 3 раза. После введения кисспептина 10 траектория увеличивалась в 2 раза, время нахождения в нижней части аквариума уменьшалось в 2 раза. Кисспептины костистых рыб также снижали тревожно-фобические реакции у рыб, но в меньшей степени. Таким образом, кисспептин 10 и аналог кисспептина млекопитающих KS6 в ответ на предъявление хищника оказали более значимое воздействие на тревожность у *Danio rerio* по сравнению с кисспептинами костистых рыб Kiss1 и Kiss2. Сделан вывод, что кисспептины костистых рыб и кисспептины млекопитающих способны снижать тревожно-фобические реакции у *Danio rerio*, но наиболее эффективны кисспептины млекопитающих.

Заключение. Кисспептин Kiss1 костистых рыб оказывает анксиолитическое действие в отличие от Kiss2, что дает основание полагать, что он влияет на снижение страха, а Kiss2, по-видимому, отвечает за социальное и половое поведение. Результаты исследований подтверждают гипотезу о том, что кисспептины могут участвовать в регуляции тревожно-фобических состояний, по-видимому, для поддержания эмоциональных аспектов репродуктивного поведения, таких как половая мотивация и возбуждение.

Ключевые слова: *Danio rerio*; Kiss1; Kiss2; кисспептин 10; аналоги кисспептина млекопитающих; тревожность; тест новизны.

Как цитировать:

Гольц В.А., Лебедев А.А., Блаженко А.А., Лебедев В.А., Байрамов А.А., Хохлов П.П., Бычков Е.Р., Пюрвеев С.С., Казаков С.В., Шабанов П.Д. Сравнение анксиолитического действия кисспептинов млекопитающих и костистых рыб у *Danio rerio* // Психофармакология и биологическая наркология. 2023. Т. 14. № 2. С. 85–96. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn501442>

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn501442>

Scientific Article

Comparison of anxiolytic effects of mammalian and bony fish kisspeptins in *Danio rerio*

Vladanka A. Golts¹, Andrei A. Lebedev¹, Aleksandra A. Blazhenko¹, Viktor A. Lebedev¹, Alekber A. Bayramov^{1, 2}, Platon P. Khokhlov¹, Eugenii R. Bychkov¹, Sarng S. Pyurveev¹, Sergei V. Kazakov¹, Petr D. Shabanov¹

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

² V.A. Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

In our previous work, we suggested that analogs of mammalian kisspeptin Kiss1 reduce anxiety and phobic reactions novel in *Danio rerio*. The most effective dose for the action of the studied analogs of kisspeptin corresponded to 0.1 mg per 1000 mL of water. In this study, other analogs of mammalian Kiss1 at a dose of 0.1 mg per 1000 mL of water also reduced the anxious behavior of *Danio* fish. The effect of Kiss1 and Kiss2 kisspeptins on the behavior of *Danio rerio* was also evaluated. In the novel test, the number of freezing decreased by two times with the introduction of kisspeptin 10 and by three times after the introduction of the kisspeptin analog. An analog of mammalian kisspeptin reduced the freezing time by two times. The length of the trajectory decreased by two times under the influence of the mammalian Kiss1 kisspeptin analog. With the action of kisspeptin 10, the number of transitions to the upper part of the tank increased by two times. After the introduction of the kisspeptin analog, the number of transitions to the upper part of the aquarium increased by three times. In the predator test, the number and time of freezing decreased by 1.5 times with the action of mammalian kisspeptins. The length of the trajectory after the introduction of kisspeptin bony fish and kisspeptin 10 mammals increased. The length of the trajectory after the introduction of Kiss1 increased by 1.5 times. The length of the trajectory after the introduction of Kiss2 increased by three times. After the introduction of kisspeptin 10, the trajectory increased by two times, and the time spent in the lower part of the tank decreased by two times. Kisspeptins of bony fish also reduced the anxiety and phobic reactions in fish, but to a lesser extent. Thus, kisspeptin 10 and an analog of mammalian kisspeptin in response to the presentation of a predator had more significant effects on anxiety in *Danio rerio* compared with the action of kisspeptin bony fish Kiss1 and Kiss2. Thus, bony fish kisspeptins and mammalian kisspeptins can reduce anxiety and phobic reactions in *Danio rerio*; however, mammalian kisspeptins are the most effective. Bony fish kisspeptin Kiss1 has an anxiolytic effect in contrast to Kiss2, which suggests that it affects fear reduction, and Kiss2 appears to be responsible for social and sexual behavior. The results support the hypothesis that kisspeptins may be involved in the regulation of anxiety and phobic states, apparently to maintain the emotional aspects of reproductive behavior, such as sexual motivation and arousal.

Keywords: *Danio rerio*; Kiss1; Kiss2; kisspeptin 10; mammalian kisspeptin analogs; anxiety; fear.

To cite this article:

Golts VA, Lebedev AA, Blazhenko AA, Lebedev VA, Bayramov AA, Khokhlov PP, Bychkov ER, Pyurveev SS, Kazakov SV, Shabanov PD. Comparison of anxiolytic effects of mammalian and bony fish kisspeptins in *Danio rerio*. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2023;14(2):85–96. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn501442>

Received: 16.05.2023

Accepted: 17.06.2023

Published: 30.06.2023

АКТУАЛЬНОСТЬ

Кисспептин и его рецепторы (Kiss-R) были идентифицированы у низших и высших позвоночных. Фактически кисспептин в последнее время чаще рассматривают как поведенческий гормон, который влияет на лимбическую систему в целом, включая гипоталамо-гипофизарно-гонадальные и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковые нейроэндокринные оси [1–4]. В свою очередь эти цепи регулируют деятельность сигнальных нейротрансмиттеров и гормонов, а именно гонадных стероидов и гормонов стресса [5, 6]. Известно, что в центральной нервной системе кисспептин выступает в роли эндокринологического регулятора полового развития и репродуктивных функций человека [7, 8]. По структуре он представляет собой нейропептид, состоящий из 145 аминокислотных остатков, которые подвергаются протеолитическому расщеплению до состоящего из 54 остатков С-концевого активного пептида, который далее распадается на более короткие формы, а именно кисспептин 10, 13, 14 [9]. Известно, что кисспептин кодируется геном *Kiss1*. К примеру, у костистых рыб идентифицированы 2 гомологичных гена (*kiss1* и *kiss2*), кодирующие кисспептин, при этом *kiss1* имеет более высокое сродство к *Kiss-R1*, а *kiss2* имеет более высокое сродство к *Kiss-R2* соответственно [10]. Ген *kiss1* является консервативным ортологом гена *Kiss1* млекопитающих, тогда как ген *kiss2* был обнаружен в ядрах гипоталамуса только у позвоночных, не являющихся млекопитающими, включая земноводных и костистых рыб [11]. У рыбок *Danio rerio* мРНК *kiss1* и *kissr1* преимущественно экспрессируются в вентральной уздечке (vHb) [12]. У позвоночных, не являющихся млекопитающими, дорсальная уздечка (dHb) и вентральная уздечка соответственно (vHb) гомологичны медиальной (mHb) и латеральной (lHb) уздечке у млекопитающих [13]. Кисспептин экспрессируется в нескольких областях центральной нервной системы крыс, включая ядра гипоталамуса (например, дугообразное ядро, антеровентральное паравентрикулярное ядро), таламические ядра, миндалину, гиппокамп, боковую перегородку, ядро ложа терминальной полоски, полосатое тело, прилежащее ядро, околосерозное вещество и *locus coeruleus* [14, 15]. Аналогичным образом *kiss1r* был локализован у крыс в гипоталамусе (например, паравентрикулярное, дугообразное и супраоптическое ядро), таламусе, гиппокампе, миндалине, перегородке, полосатом теле, ядрах шва и коре мозга [16, 17]. Имеются данные, что *kiss2* имеет большую эффективность в сравнении с *kiss1*, отвечая в наибольшей степени за репродуктивное поведение. Результаты Real Time PCR показали, что нейроны *kiss1* были расположены в дорсо-медиальной и вентромедиальной хабенулах, причем их нервные волокна проецировались на вентральные части интерпедункулярного ядра и ядер шва. В свою очередь мРНК *kiss2r* широко экспрессировалась по всему головному мозгу, включая обонятельную луковицу, конечный мозг,

преоптическую область, средний мозг, ядра гипоталамуса, мозжечок и спинной мозг. Нейроны *kiss2* в основном локализованы в дорсальном и вентральном гипоталамусе, а нейронные проекции проходят в несколько областей мозга, таких как преоптическая область и вентральный гипоталамус. Его широкое распространение предполагает, что он может иметь несколько функций [18, 19].

Преоптическая область и гипоталамус являются важными областями для распределения нейронов гипофиза. Считалось, что нейроны *kiss2* в вентральном гипоталамусе могут быть ответственны за регулирование размножения. Однако неясно, проецируются ли эти нейроны *kiss2* в гипофиз. В недавнем исследовании было выявлено, что мРНК *kiss2*, но не *kiss1*, экспрессировалась в гипофизе самки рыбок данио. Структура распределения этих *kiss2*-положительных структур была аналогична структуре волокон *Gnrh3*, и клетки *kiss2* находились в тесном контакте с волокнами *Gnrh3*. *kiss2* непосредственно регулировал экспрессию мРНК *lhβ*, *fshβ* и *prl1* в гипофизе самок рыб [20]. Например, мРНК *kiss1* и *kiss2* была обнаружена в гипофизе нескольких видов телеоста. У головной скумбрии мРНК *kiss1* был обнаружен как в женском, так и в мужском гипофизе [21]. Напротив, мРНК *kiss2* экспрессировалась в гипофизе травяного фугу во время нереста [22]. У европейского морского окуня мРНК *kiss1* и *kiss2* были обнаружены в гипофизе самцов и самок [23].

До сих пор остается невыясненной роль кисспептина у телеостов. При этом достаточно хорошо известно, что кисспептин у млекопитающих участвует как минимум в реакциях страха и размножения. Скорее всего, у рыб кисспептин выполняет аналогичную функцию. Исходя из того факта, что гипофиз ответствен за выработку гонадотропинов, которые принимают участие в развитии и созревании половых желез, а соответственно и секрет половых гормонов, есть основание полагать, что влияние острого стрессора может привести к снижению выработки полового секрета и главного регулятора-гонатотропина. С другой стороны, имеются данные, что в гипофизе иммунореактивность *Kiss2-R* наблюдалась в кортикотропах, но не в гонадотропах. Результаты этого исследования показывают, что передача сигналов *Kiss2* и *Kiss2-R* непосредственно выполняет нерепродуктивные функции и косвенно подчиняет репродуктивные функции в телеостах [24], что затрудняет на данном этапе возможность узнать, какие же функции выполняет система *kiss2*. В одном из исследований на примере морского окуня было выявлено, что *Kiss1* кодирует пептид, идентичный кисспептину-10 грызунов, в то время как пептид *Kiss2* не идентичен. Поиск в базе данных генома показал, что оба гена присутствуют в геномах неплацентарных позвоночных. Эти данные совпали с филогенетическим и картографическим анализом, согласно которому *kiss1* и *kiss2* являются парологичными генами, которые возникли в результате дупликации предкового гена, хотя *kiss2* был потерян плацентарными млекопитающими.

Также был проведен анализ мРНК, который показал наличие *kiss1* и *kiss2* в мозге и гонадах морского окуня, мекки и рыбки *Danio rerio*. При анализе на гормоны Kiss2 в большей степени индуцировал секрецию лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормона морского окуня, чем Kiss1. Напротив, пептид Kiss2 только слабо вызывал секрецию лютеинизирующего гормона у крыс, тогда как пептид Kiss1 был максимально эффективным [25].

Сравнительно недавно рыбы вида *Danio rerio* стали объектом изучения для нейробиологов, генетиков, нейрорепсихофармакологов и токсикологов благодаря следующим преимуществам: активное плавание, адаптация к новой обстановке, короткий репродуктивный период, высокая плодовитость и низкая себестоимость. Все это дает возможность использовать *Danio rerio* в качестве животных моделей для лабораторных исследований [26]. В настоящее время на рыбах часто проводят поведенческие тесты на тревогу, стресс и страх. Было показано, что в тесте новизны *Danio rerio* проявляет соответствующие для страха признаки: увеличение числа фризингов (замираний, обездвиживаний), погружение на дно, снижение числа переходов в верхнюю и нижнюю части аквариума, но по мере акклиматизации к новой обстановке наблюдаются увеличение двигательной активности, снижение фризинга и увеличение числа перемещений в верхнюю часть аквариума [27–29]. Достаточно давно для оценки тревожного состояния используется модель «хищник – жертва». Жертва получает информацию о нахождении хищника посредством обонятельных, визуальных, акустических, вибрационных сигналов. В литературе содержится достаточное количество информации о восприятии хищника у рыб [30, 31]. Комбинации данных сигналов от хищника вызывают тревожно-фобическое состояние у рыб [32]. В настоящее время имеется не много данных относительно модели предъявления хищника, применяемой на *Danio rerio*.

В настоящей работе исследован стресс новизны и стресс с хищником на фоне введения кисспептинов костистых рыб и кисспептинов млекопитающих. Исходная задача состояла в выполнении сравнительной характеристики данных пептидов, чтобы проверить их эффективность.

В исследовании применяли препараты кисспептинов Kiss1, Kiss2 костистых рыб, а также новый аналог кисспептина и Kiss10 у млекопитающих. С целью изучения поведенческих особенностей рыб в ответ на стрессовую ситуацию в работе использовали тест новизны, описанный в наших предыдущих исследованиях [33, 34]. Также проведены исследования стресса с хищником на фоне введения кисспептинов костистых рыб и кисспептинов млекопитающих.

Цель работы — исследование анксиолитического действия кисспептинов млекопитающих и кисспептинов костистых рыб у *Danio rerio*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выбор животных. Исследования проводились на 105 половозрелых рыбах *Danio rerio* (zebrafish или полосатый данио) в возрасте 6–8 мес (молодые половозрелые животные, жизненный цикл до 5 лет) фирмы «Аква Питер» и выращенных в ФГБНУ Институт экспериментальной медицины — *Danio rerio*, дикий тип (wild type). Для тестирования использовали интактных животных после 2-недельного периода адаптации к помещению и аквариумам водоизмещением 40 л по 20–30 животных в каждом. Температуру воды 25–27 °С поддерживали постоянно. Животных содержали в стандартных условиях светового режима (8:00–20:00) при температуре помещения 22 ± 2 °С, кормили 2 раза в день стандартным кормом «Tetramin tropical flakes». В каждой группе было не менее 10–12 рыб

Тест стресса новизны. Для экспериментов оценки новизны применяли стандартный просмотровый аквариум, который используется для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio* [35, 36], трапециевидной формы, водоизмещением 1,5 л, высотой 15 см и шириной 7 см. Длина аквариума в основании составляла 22 см, в верхней части — 28 см. Такая конструкция позволяет наблюдать за вертикальными и горизонтальными движениями. Поскольку данный поведенческий тест основывается главным образом на инстинкте поиска защиты от незнакомой обстановки погружением на дно [37, 38], аквариум был разделен чертой на 2 равные части — верхнюю и нижнюю. Рыбку помещали сначала в мерный стакан водоизмещением 200 мл с растворенным фармакологическим веществом (или водой) на 5 мин, затем в предстартовый аквариум с водой (10 × 10 × 10 см³) на 5 мин и далее в просмотровый аквариум на 6 мин, где регистрировали двигательную активность за опыт (длина трека рыбки), число переходов в верхнюю и нижнюю половины аквариума и время нахождения в них. Автоматически регистрировали число и время паттернов фризинга (обездвиживание, или «примерзание») за опыт, которые обычно наблюдаются при стрессе новизны и отражают уровень тревожности животного [39]. Поведение регистрировали автоматически с помощью системы EthoVision XT7 (Noldus, Нидерланды), которая дает возможность как фиксировать показания в цифровом выражении, так и визуально контролировать видеотрек рыбки.

Тест на предъявление хищника. Тест аналогичен экспозиции ПТСР у крыс. Для проведения эксперимента использовали интактных животных после 2-недельного периода адаптации к помещению и аквариумам водоизмещением 40 л по 20–30 рыб в каждом. Температуру воды 23–25 °С поддерживали постоянно. Животных содержали в стандартных условиях светового режима (8:00–20:00) при температуре помещения 22 ± 2 °С, кормили 2 раза в день стандартным кормом «Tetramin tropical flakes». Все манипуляции с животными одобрены локальным этическим комитетом ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (протокол № 12 от 26.09.2019).

Для оценки теста стресса с хищником применяли стандартный просмотрный аквариум, используемый для изучения тревожно-фобических реакций у zebrafish, водоизмещением 1,5 л, трапециевидной формы, высотой 15 см и шириной 7 см. Длина аквариума в основании составляла 22 см, в верхней части — 28 см. В данном случае рыбку помещали в мерный стакан водоизмещением 200 мл с растворенным фармакологическим веществом на 5 минут, затем в предстартовый аквариум (10 × 10 × 10 см³) с хищником *Hypsophrys nicaraguensis* на 5 мин и далее в просмотрный аквариум, который обычно используется для оценки новизны стимула, на 6 мин. Kiss1, Kiss2, Kiss10, KS6 растворяли в мерном стаканчике в дозировке 0,1 мг/л.

Фармакологические вещества. Для фармакологического анализа использовали Kiss1 (pyroglut-NVAYYNLNSFGLRY-NH₂) и Kiss2 (FNYPFGLRF-NH₂), костистых рыб, синтезированных в отделе общей патологии и патофизиологии, а также аналог кисспептина Kiss1 млекопитающих Cloud Clone (США) KS6 (отличался от Kiss1 концевым фрагментом) и кисспептин 10 (Tyr-Asp-Trp-Asn-Ser-Phe-Gly-Leu-Arg-Phe-NH₂) млекопитающих (ФГБУ «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов», Россия). Все препараты были растворены в дозировке 0,1 мг/л воды.

Статистические методы анализа. Оценку статистической достоверности различий проводили при помощи пакета программ GraphPad Prism 8.4 (GraphPad Software, США) с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Для сравнения контрольной и экспериментальных групп использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Полученные результаты по анализу биологического материала определяли по *t*-критерию Стьюдента. Из непараметрических критериев использовали критерий Ньюмена – Кейлса для сравнения групп. Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Для представления полученных данных использовали такие показатели описательной статистики, как среднее арифметическое значение и ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования в стрессе новизны без хищника было выявлено, что в паттерне «число фризингов» статистически значимыми оказались Kiss10 и аналог кисспептина Kiss1 млекопитающих Cloud Clone (США) KS6. Из данных таблицы 1 видно, что они значительно снижали число замираний в сравнении с контролем. Кисспептины костистых рыб незначительно снижали данный паттерн. Также KS6 существенно снижал время фризинга и увеличивал число переходов в верхнюю часть аквариума. Под воздействием препарата Kiss10 также увеличивалось число переходов. Однако исследование показало, что кисспептины костистых рыб также снижали тревожно-фобические реакции у рыб, но в меньшей степени.

В тесте экспозиции с хищником снижалось время фризинга под воздействием кисспептинов как у рыб, так и у млекопитающих, однако статистически значимыми оказались Kiss10 и KS6. В сравнении с контрольной группой (КГ) время фризинга под воздействием данных препаратов было снижено в 2 раза. В то же время увеличивалась длина траектории рыбки, но сложно сказать однозначно, можно ли рассматривать реактивность движения как положительное действие препарата, или все-таки она детерминирована реакцией страха. В частности, в сравнении с КГ кисспептины, полученные от рыб, не оказали влияния на предпочтение рыбок находиться в верхней части аквариума. В данном случае рыбки предпочитали находиться в нижней части, в то время как Kiss10 и KS6 значительно понижали пребывание в данной зоне. Если оценивать число замираний, то все кисспептины понижали данный параметр, хотя не было выявлено статистически значимых препаратов. Число перемещений также увеличивалось во всех группах в сравнении с КГ. Исходя из полученных данных можно говорить о том, что Kiss10 и KS6 в ответ на предъявление хищника оказали наиболее сильный эффект (табл. 2).

Таблица 1. Действие Kiss1, Kiss2, Kiss10, KS6 (0,1 мл/л) на поведение рыб *Danio rerio* в тесте стресса новизны без предъявления хищника

Table 1. Effect of Kiss1, Kiss2, Kiss10, and KS6 (0.1 mL/L) on the behavior of *Danio rerio* fish in the novelty stress test without presenting a predator

Группа	Число фризингов, <i>n</i>	Время фризинга, <i>c</i>	Длина траектории, см	Время в нижней части аквариума, с	Число перемещений в верхнюю часть аквариума
Контрольная	81,38 ± 4,95	41,35 ± 2,3	1643 ± 289,8	213,9 ± 32,46	20,67 ± 6
Kiss1	61,33 ± 3,61	35,92 ± 1,52	1310 ± 205,8	275,3 ± 22,67	34,67 ± 8
Kiss2	64,25 ± 6,67	38,85 ± 1,75	1792 ± 476	210,6 ± 44,83	30,33 ± 6,8
Kiss10	46,17 ± 11,15*	28,42 ± 7,96	1163 ± 155,6	224,4 ± 38,58	44,17 ± 5,5*
KS6	29,67 ± 4,88***	18,92 ± 5,520**	663,6 ± 188,6*	183,1 ± 84,21	42,0 ± 6,0*

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0001$ относительно контрольной группы.

Таблица 2. Действие Kiss1, Kiss2, Kiss10 и KS6 (0,1 мл/л) на поведение рыб *Danio rerio* в тесте стресса новизны с предъявлением хищника**Table 2.** Effect of Kiss1, Kiss2, Kiss10, and KS6 (0.1 mL/L) on the behavior of *Danio rerio* fish in the novelty stress test with the presentation of a predator

Группа	Число фризингов, <i>n</i>	Время фризинга, с	Длина траектории, см	Время в нижней части аквариума, с	Число перемещений в верхнюю часть аквариума
Контрольная	104,7 ± 15,7	53,14 ± 7,38	608,7 ± 96,19	326,6 ± 22,92	9,6 ± 4,2
Kiss1	61,86 ± 12,7	33,43 ± 5,51	993,2 ± 143,6*	352 ± 4,95	23,86 ± 5,2
Kiss2	69,71 ± 10	34,93 ± 5,02	1810 ± 499,8*	350,3 ± 4,55	11,43 ± 4,2
Kiss10	61,3 ± 5,13*	34,36 ± 2,8*	1108 ± 208,8	185,7 ± 11,75***	15 ± 2,6
KS6	62,93 ± 5,8*	32,8 ± 2,9*	1135 ± 191,9*	188,9 ± 12,69***	24 ± 5,6

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0001$ относительно контрольной группы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Экосистема как основная природная единица включает в себя совокупность организмов, взаимодействующих друг с другом и занимающих определенные уровни пищевой цепи. Наиболее распространенный тип отношений — взаимодействие хищника и жертвы, или консументов двух порядков. Данная модель наиболее часто применяется экспериментаторами как один из стрессоров, который подразумевает под собой угрозу от хищника при наличии такового [40–42] или запах хищника [43–45]. В то время как изучение тип отношений «хищник – жертва» между млекопитающими до сих пор остается одним из самых распространенных в исследованиях, аналогичные взаимодействия между растительноядными и хищными рыбами не приобрели такой популярности. В водной системе химические сигналы являются основным средством, с помощью которого рыба обнаруживает хищника и оценивает возможность хищничества [46, 47]. Сигналы, специфичные для хищника, позволяют жертве выработать адаптивные защитные механизмы. К ним наиболее часто относят изменение в поведении, морфологии и физиологии [46, 48–52]. В ответ на сигнал хищника жертва проявляет набор краткосрочных поведенческих реакций, таких как снижение активности или замирание [51], снижение интенсивности кормления, проявления скрытности, изменение окружающей среды [49, 53, 54]. На сегодняшний день имеется явный недостаток информации о сенсорных путях, с помощью которых добыча обрабатывает запах хищника. Отчасти это связано с тем фактом, что феромоны рыб пока не становились предметом интенсивного изучения. Основными сенсорными путями для обнаружения присутствующих в водной среде химических веществ являются обоняние и осязание [55]. Известно, что у рыб существует три типа нейронов обонятельных рецепторов (ORN): реснитчатые, микроворсинчатые и криптоцитарные клетки, — которые собраны в розетки в обонятельном эпителии. Эти разные ORN проецируются на клубочки, расположенные в определенных областях внутри обонятельной луковицы, в результате

чего клубочки с одинаковой хемочувствительностью располагаются рядом друг с другом. Затем химическая информация передается из обонятельной луковицы через митральные клетки в передний мозг, где происходит обработка обонятельной информации более высокого порядка [56, 57]. Различные типы ORN чувствительны к разным классам запахов, соответственно запахи пищи, феромоны и сигналы тревоги обрабатываются преимущественно отдельными путями [56–58]. Было показано, что воздействие запахов хищников изменяет различные когнитивные черты, связанные с поведением. Например, воздействие запаха хищника может способствовать обучению в целом [59–61]. Однако хотя подверженность риску хищничества может усилить когнитивные черты, связанные с распознаванием хищника, это может ухудшить другие когнитивные функции, такие как пространственное обучение [62]. Можно предположить, что если у млекопитающих в ответ на однократное воздействие хищником вырабатывается характерный набор стойких поведенческих ответов, то и у рыб данный вид стресса будет вызывать подобные изменения как подтверждение гипотезы об общих генах, отвечающих за развитие аффективных расстройств между разными эволюционными цепочками [63].

Ранее проведенные исследования показали, что тест стресса новизны является чувствительным для изучения тревожно-фобических реакций у *Danio rerio*. Наши исследования подтвердили данные о том, что реакция на новизну помещения в просмотровый аквариум у *Danio rerio* (zebrafish) имеет типичную картину паттернов поведения. В ответ на незнакомую обстановку просмотрового аквариума рыба реагировала погружением на дно, фризингом и снижением двигательного поведения [33, 36, 39]. При этом часто наблюдался фризинг, число и время которого за опыт было достаточно велико, как и время пребывания рыбы в нижней части аквариума. Полученные нами результаты во многом согласуются с данными литературы [29, 64].

Проанализировав поведенческие акты низшего позвоночного в ответ на стресс, мы обнаружили, что стресс с хищником обладает наиболее яркой реакцией

в сравнении со стрессом новизны. Однако данные методики достаточно хорошо репрезентируют тревожно-фобические реакции, что дает основание полагать, что поведение рыб можно также рассматривать как скрининговую модель для создания новых препаратов, нормализующих психическое состояние. В данном исследовании мы рассматривали препараты кисспептинов, которые, по нашим предположениям, обладают анксиолитическим действием. Проведя сравнительный анализ, мы определили, что кисспептины действительно ингибируют тревожно-фобическое состояние рыб как после стресса новизны, так и после хищника. Настоящие исследования показали, что на фоне действия кисспептинов в моделях стресса новизны и предъявления хищника в сравнении с КГ снижались такие показатели, как число фризингов и время фризинга. Увеличивалось число переходов в верхнюю часть аквариума. Однако в сравнении с КГ нет значительной разницы во времени, в течение которого рыба находилась в нижней части аквариума. Наиболее характерные признаки анксиолитического эффекта были выявлены у аналога кисспептина млекопитающих KS6 — у Kiss10. Наибольшее количество статистически значимых показателей выявлено у KS6. Кисспептины костистых рыб тоже снижали паттерны тревоги, но в меньшей степени. Kiss2 у телеостов, который предопределяет половое поведение рыб, исходя из данных таблицы 2, обладает незначительным анксиолитическим эффектом и не отличается существенно от КГ, однако есть основание полагать, что именно снижение страха приводит к поиску партнера. Таким образом, мы подтвердили гипотезу о том, что данные препараты обладают ожидаемыми нами эффектами, однако насколько они эффективны для дальнейшего применения, пока неясно, что дает повод продолжать рассматривать их действие на уровне биохимии низших позвоночных.

ВЫВОДЫ

1. Кисспептины костистых рыб и кисспептины млекопитающих снижают тревожно-фобические реакции у рыб данио, но более эффективны кисспептины млекопитающих.
2. Результаты подтверждают гипотезу о том, что кисспептины могут участвовать в регуляции тревожно-фобических состояний, по-видимому, для поддержания эмоциональных аспектов репродуктивного поведения, таких как половая мотивация и возбуждение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Comninou A.N., Wall M.B., Demetriou L., et al. Kisspeptin modulates sexual and emotional brain processing in humans // *J Clin Invest*. 2017. Vol. 127, No. 2. P. 709–719. DOI: 10.1172/JCI89519
2. Comninou A.N., Dhillon W.S. Emerging roles of kisspeptin in sexual and emotional brain processing // *Neuroendocrinology*. 2018. Vol. 106, No. 2. P. 195–202. DOI: 10.1159/000481137
3. Mills E.G.A., O'Byrne K.T., Comninou A.N. Kisspeptin as a behavioral hormone // *Semin Reprod Med*. 2019. Vol. 37, No. 2. P. 56–63. DOI: 10.1055/s-0039-3400239
4. Mills E.G.A., O'Byrne K.T., Comninou A.N. The roles of the amygdala kisspeptin system // *Semin Reprod Med*. 2019. Vol. 37, No. 2. P. 64–70. DOI: 10.1055/s-0039-3400462

3. Кисспептин Kiss1 оказывает анксиолитическое действие в отличие от Kiss2, что дает основание полагать, что он влияет на снижение страха, а Kiss2, по-видимому, отвечает за социальное и половое поведение у рыб *Danio rerio*.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: В.А. Гольц, А.А. Блаженко, В.А. Лебедев, А.А. Байрамов, П.П. Хохлов, Е.Р. Бычков, С.С. Пюрвеев, С.В. Казаков — написание статьи, анализ данных; А.А. Лебедев, П.Д. Шабанов — разработка общей концепции.

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России FGWG-2022-0004 на 2022–2025 гг. «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддитивных и нейроэндокринных нарушениях и создание новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС».

ADDITIONAL INFORMATION

Authors contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. The contribution of each author: V.A. Golts, A.A. Blazhenko, V.A. Lebedev, A.A. Bayramov, P.P. Khokhlov, E.R. Bychkov, S.S. Purveev, S.V. Kazakov — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; A.A. Lebedev, P.D. Shabanov — general concept discussion.

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

Funding source. The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science of Russia FGWG-2022-0004 for 2022–2025 “Search of molecular targets for pharmacological action in addictive and neuroendocrine disorders and the creation of new pharmacologically active substances acting on CNS receptors”.

5. Zhu Y., Wu X., Zhou R., et al. Hypothalamic-pituitary-end-organ axes: hormone function in female patients with major depressive disorder // *Neurosci Bull.* 2021. Vol. 37, No. 2. P. 1176–1187. DOI: 10.1007/s12264-021-00689-6
6. Oyola M.G., Handa R.J. Hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity // *Stress.* 2017. Vol. 20, No. 5. P. 476–494. DOI: 10.1080/10253890.2017.1369523
7. Lehman M.N., Hileman S.M., Goodman R.L. Neuroanatomy of the kisspeptin signaling system in mammals: Comparative and developmental aspects. Kisspeptin signaling in reproductive biology. *Advances in experimental medicine and biology.* Vol. 784 / A. Kauffman, J. Smith, editors. New York: Springer, 2013. P. 27–62. DOI: 10.1007/978-1-4614-6199-9_3
8. Hellier V., Brock O., Bakker J. The role of kisspeptin in sexual behavior // *Semin Reprod Med.* 2019. Vol. 37, No. 2. P. 84–92. DOI: 10.1055/s-0039-3400992
9. Colledge W.H. GPR54 and kisspeptins. Orphan G Protein-coupled receptors and novel neuropeptides. Results and problems in cell differentiation. Vol. 46 / O. Civelli, Q.Y. Zhou, editors. Berlin: Springer, 2008. P.117–143. DOI: 10.1007/400_2007_050
10. Kitahashi T., Ogawa S., Parhar I.S. Cloning and expression of kiss2 in the zebrafish and medaka // *Endocrinology.* 2009. Vol. 150, No. 2. P. 821–831. DOI: 10.1210/en.2008-0940
11. Gopurappilly R., Ogawa S., Parhar I.S. Functional significance of GnRH and kisspeptin, and their cognate receptors in teleost reproduction // *Front Endocrinol.* 2013. Vol. 8, No. 4. P. 24. DOI: 10.3389/fendo.2013.00024
12. Ogawa S., Ng K.W., Ramadasan P.N., et al. Habenular Kiss1 neurons modulate the serotonergic system in the brain of zebrafish // *Endocrinology.* 2012. Vol. 153, No. 5. P. 2398–2407. DOI: 10.1210/en.2012-1062
13. Amo R., Aizawa H., Takahoko M., et al. Identification of the zebrafish ventral habenula as a homolog of the mammalian lateral habenula // *J Neurosci.* 2010. Vol. 30, No. 4. P. 1566–1574. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3690-09.2010
14. Brailoiu G.C., Dun S.L., Ohsawa M., et al. KiSS-1 expression and metastin-like immunoreactivity in the rat brain // *J Comp Neurol.* 2005. Vol. 481, No. 3. P. 314–329. DOI: 10.1002/cne.20350
15. Overgaard A., Tena-Sempere M., Franceschini I., et al. Comparative analysis of kisspeptin-immunoreactivity reveals genuine differences in the hypothalamic Kiss1 systems between rats and mice // *Peptides.* 2013. Vol. 45. P. 85–90. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.04.013
16. Lee D.K., Nguyen T., O'Neill G.P., et al. Discovery of a receptor related to the galanin receptors // *FEBS Lett.* 1999. Vol. 446, No. 1. P. 103–107. DOI: 10.1016/S0014-5793(99)00009-5
17. Higo S., Honda S., Iijima N., et al. Mapping of kisspeptin receptor mRNA in the whole rat brain and its co-localisation with oxytocin in the paraventricular nucleus // *J Neuroendocrinol.* 2016. Vol. 28, No. 4. P. 1–8. DOI: 10.1111/jne.12356
18. Servili A., Le Page Y., Leprince J., et al. Organization of two independent kisspeptin systems derived from evolutionary-ancient kiss genes in the brain of zebrafish // *J Endocrinol.* 2011. Vol. 152, No. 4. P. 1527–1540. DOI: 10.1210/en.2010-0948
19. Song Y., Duan X., Chen J., et al. The distribution of kisspeptin (Kiss)1- and Kiss2 — Positive neurones and their connections with gonadotrophin-releasing hormone-3 neurones in the zebrafish brain // *J Neuroendocrinol.* 2015. Vol. 27, No. 3. P. 198–211. DOI: 10.1111/jne.12251
20. Song Y., Chen J., Tao B., et al. Kisspeptin2 regulates hormone expression in female zebrafish (*Danio rerio*) pituitary // *J Mol Cell Endocrinol.* 2020. Vol. 513. P. 110–858. DOI: 10.1016/j.mce.2020.110858
21. Selvaraj S., Kitano H., Fujinaga Y., et al. Molecular characterization, tissue distribution, and mRNA expression profiles of two Kiss genes in the adult male and female chub mackerel (*Scomber japonicus*) during different gonadal stages // *Gen Comp Endocrinol.* 2010. Vol. 169, No. 1. P. 28–38. DOI: 10.1016/j.ygcen.2010.07.011
22. Shahjahan M., Motohashi E., Doi H., Ando H. Elevation of Kiss2 and its receptor gene expression in the brain and pituitary of grass puffer during the spawning season // *Gen Comp Endocrinol.* 2010. Vol. 169, No. 1. P. 48–57. DOI: 10.1016/j.ygcen.2010.07.008
23. Alvarado M.V., Carrillo M., Felip A. Expression of kisspeptins and their Receptors, *gnrh-gnrhr-II-1a* and gonadotropin genes in the brain of adult male and female European sea bass during different gonadal stages // *Gen Comp Endocrinol.* 2013. Vol. 187. P. 104–116. DOI: 10.1016/j.ygcen.2013.03.030
24. Ogawa S., Sivalingam M., Anthonysamy R., Parhar I.S. Distribution of Kiss2 receptor in the brain and its localization in neuroendocrine cells in the zebrafish // *Cell and Tissue Res.* 2020. Vol. 379, No. 2. P. 349–372. DOI: 10.1007/s00441-019-03089-5
25. Felip A., Zanuy S., Pined R., et al. Evidence for two distinct KiSS genes in non-placental vertebrates that encode kisspeptins with different gonadotropin-releasing activities in fish and mammals // *J Mol Cell Endocrinology.* 2009. Vol. 312, No. 1–2. P. 61–71. DOI: 10.1016/j.mce.2008.11.017
26. Spence R., Gerlach G., Lawrence C., Smith C. The behaviour and ecology of the *Danio rerio* // *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2008. Vol. 83, No. 1. P. 13–34. DOI: 10.1111/j.1469-185X.2007.00030.x
27. Maximino C., de Brito M.T., Colmanetti R., et al. Parametric analyses of anxiety in *Danio rerio scototaxis* // *Behav Brain Res.* 2010. Vol. 210, No. 1. P. 1–7. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.01.031
28. Miklosi A., Andrew R.J. The zebrafish as a model for behavioral studies // *Zebrafish.* 2006. Vol. 3, No. 2. P. 227–234. DOI: 10.1089/zeb.2006.3.227
29. Wong K., Elegante M., Bartels B., et al. Analyzing habituation responses to novelty in *Danio rerio* (*Danio rerio*) // *Behav Brain Res.* 2010. Vol. 208, No. 2. P. 450–457. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.12.023
30. Barcellos L.J.G., Koakoski G., Da Rosa J.G.S., et al. Chemical communication of predation risk in zebrafish does not depend on cortisol increase // *Sci Rep.* 2014. Vol. 4. ID 5076. DOI: 10.1038/srep05076
31. Kalluef A.V., Stewart A.M., Gerlai R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders // *Cell Press.* 2014. Vol. 35, No. 2. P. 63–75. DOI: 10.1016/j.tips.2013.12.002
32. O'Connor C.M., Reddon A.R., Odetunde A., et al. Social cichlid fish change behavior in response to a visual predator stimulus, but not the odour of damaged conspecifics // *Behav Processes.* 2015. Vol. 121. P. 21–29. DOI: 10.1016/j.beproc.2015.10.002
33. 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.* 2017. Т. 15, № 3. С. 57–63. DOI: 10.17816/RCF15357-63
34. Shabanov P.D., Blazhenko A.A., Devyashin A.S., et al. In search of new brain biomarkers of stress // *Res Results Pharmacol.* 2021. Vol. 7, No. 1. P. 41–46. DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.63326

35. Cachat J., Stewart A., Grossman L., Kalueff A.V. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult *Danio rerio* // *Nat Protoc.* 2010. Vol. 5, No. 11. P. 1786–1789. DOI: 10.1038/nprot
36. Девяшин А.С., Блаженко А.А., Лебедев В.А., и др. Оценка дозозависимых эффектов анксиолитиков бензодиазепинового ряда на примере диазепам у *Danio rerio* // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2020. Т. 18, № 1. С. 43–49. DOI: 10.17816/RCF18143-49
37. Ереско С.О., Айрапетов М.И., Матвеева Н.А., и др. *Danio rerio* как модельный объект в наркологических исследованиях // *Наркология.* 2020. Т. 19, № 4. С. 43–48. DOI: 10.25557/1682-8313
38. Блаженко А.А., Хохлов П.П., Тиссен И.Ю., и др. Устранение стрессогенного повышения грелина в головном мозге *Danio rerio* бензодиазепиновыми транквилизаторами // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2020. Т. 18, № 4. С. 327–332. DOI: 10.17816/RCF184327-332
39. Лебедев В.А., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Возможность использования поведенческих ответов *Danio rerio* в оценке дозозависимых эффектов феназепам // *Лабораторные животные для научных исследований.* 2018. № 1. С. 12–21. DOI: 10.29926/2618723X-2018-01-02
40. Adamec R., Walling S., Burton P. Long-lasting, selective, anxiogenic effects of feline predator stress in mice // *Physiol Behav.* 2004. Vol. 83, No. 3. P. 401–410. DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.08.029
41. Zoladz P.R., Conrad C.D., Fleshner M., Diamond D.M. Acute episodes of predator exposure in conjunction with chronic social instability as an animal model of post-traumatic stress disorder // *Stress.* 2008. Vol. 11, No. 4. P. 259–281. DOI: 10.1080/10253890701768613
42. Zoladz P.R., Fleshner M., Diamond D.M. Differential effectiveness of tianeptine, clonidine and amitriptyline in blocking traumatic memory expression, anxiety and hypertension in an animal model of PTSD // *Prog Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry.* 2013. Vol. 44. P. 1–16. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2013.01.001
43. Zohar J., Matar M.A., Ifergane G., et al. Brief post stressor treatment with pregabalin in an animal model for PTSD: short-term anxiolytic effects without long-term anxiogenic effect // *Eur Neuropsychopharmacol.* 2008. Vol. 18, No. 9. P. 653–666. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2008.04.009
44. Mackenzie L., Nalivaiko E., Beig M.I., et al. Ability of predator odour exposure to elicit conditioned versus sensitized posttraumatic stress disorder-like behaviours, and forebrain delta Fos B expression, in rats // *Neuroscience.* 2010. Vol. 169, No. 2. P. 733–742. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.05.005
45. Cohen H., Liu T., Kozlovsky N., et al. The neuropeptide Y (NPY)-ergic system is associated with behavioral resilience to stress exposure in an animal model of posttraumatic stress disorder // *Neuropsychopharmacology.* 2012. Vol. 37, No. 2. P. 350–363. DOI: 10.1038/npp.2011.230
46. Bronmark C., Miner J.G. Predator-induced phenotypical change in body morphology in crucian carp // *Science.* 1992. Vol. 258, No. 5086. P. 1348–1350. DOI: 10.1126/science.258.5086.1348
47. Ferrari M.C.O., Chivers D.P., Wisenden B.D. Chemical ecology of predator-prey interactions in aquatic ecosystems: a review and prospectus // *Can J Zool.* 2010. Vol. 88, No. 7. P. 698–724. DOI: 10.1139/Z10-029
48. Chivers D.P., Mirza R.S. Predator diet cues and the assessment of predation risk by aquatic vertebrates: a review and prospectus. *Chemical Signals in Vertebrates 9* / A. Marchlewska-Koj, J.J. Lepri, D. Müller-Schwarze, editors. Boston: Springer, 2001. P. 277–284. DOI: 10.1007/978-1-4615-0671-3_37
49. Dawidowicz P., Loose C.J. Metabolic costs during predator-induced dielvertical migration of *Daphnia* // *Limnol Oceanogr.* 1992. Vol. 37, No. 8. P. 1589–1595. DOI: 10.4319/lo.1992.37.8.1589
50. Fonner C.W., Woodley S.K. Testing the predation stress hypothesis: behavioural and hormonal responses to predator cues in Allegheny Mountain dusky salamanders // *Behaviour.* 2015. Vol. 152, No. 6. P. 797–819. DOI: 10.1163/1568539X-00003254
51. Gazzola A., Brandalise F., Rubolini D., et al. Fear is the mother of invention: anuran embryos exposed to predator cues alter lifehistory traits, post-hatching behaviour and neuronal activity patterns // *J Exp Biol.* 2015. Vol. 218, No. 24. P. 3919–3930. DOI: 10.1242/jeb.126334
52. Hazlett B.A. Responses to multiple chemical cues by the crayfish *Orconectes virilis* // *Behaviour.* 1999. Vol. 136, No. 2. P. 161–177. DOI: 10.1651/C-2595.1
53. Foam P.E., Harvey M.C., Mirza R.S., Brown G.E. Heads up: juvenile convict cichlids switch to threat-sensitive foraging tactics based on chemosensory information // *Anim Behav.* 2005. Vol. 70, No. 3. P. 601–607. DOI: 10.1016/j.anbehav.2004.12.011
54. Briones-Fourzán P., Ramírez-Zaldívar E., Lozano-Álvarez E. Influence of conspecific and heterospecific aggregation cues and alarm odors on shelter choice by syntopic spiny lobsters // *Biol Bull.* 2008. Vol. 215, No. 2. P. 182–190. DOI: 10.2307/25470699
55. Mitchell M.D., Bairos-Novak K.R. Mechanisms underlying the control of responses to predator odours in aquatic prey // *J Exp Biol.* 2017. Vol. 220, No. 11. P. 1937–1946. DOI: 10.1242/jeb.135137
56. Derby C.D., Sorensen P.W. Neural processing, perception, and behavioral responses to natural chemical stimuli by fish and crustaceans // *J Chem Ecol.* 2008. Vol. 34, No. 7. P. 898–914. DOI: 10.1007/s10886-008-9489-0
57. Døving K.B., Lastein S. The alarm reaction in fishes-odorants, modulations of responses, neural pathways // *Ann NY Acad Sci.* 2009. Vol. 1170, No. 1. P. 413–423. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04111.x
58. Hamdani E.H., Døving K.B. Sensitivity and selectivity of neurons in the medial region of the olfactory bulb to skin extract from conspecifics in crucian carp, *Carassius carassius* // *Chem Senses.* 2003. Vol. 28, No. 3. P. 181–189. DOI: 10.1093/chemse/28.3.181
59. Brown G.E., Ferrari M.C.O., Elvidge C.K., et al. Phenotypically plastic neophobia: a response to variable predation risk // *Proc R Soc B Biol Sci.* 2013. Vol. 280, No. 1756. ID 20122712. DOI: 10.1098/rspb.2012.2712
60. Mitchell M.D., Chivers D.P., Brown G.E., Ferrari M.C.O. Living on the edge: how does environmental risk affect the behavioural and cognitive ecology of prey? // *Anim Behav.* 2016. Vol. 115. P. 185–192. DOI: 10.1016/j.anbehav.2016.03.018
61. Orr M.V., El-Bekai M., Lui M., et al. Predator detection in *Lymnaea stagnalis* // *J Exp Biol.* 2007. Vol. 210, No. 23. P. 4150–4158. DOI: 10.1242/jeb.010173
62. Brown C., Braithwaite V.A. Effects of predation pressure on the cognitive ability of the poeciliid *Brachyrhaphis episcopi* // *Behav Ecol.* 2005. Vol. 16, No. 2. P. 482–487. DOI: 10.1093/beheco/ari016
63. Demin K.A., Krotova N.A., Ilyin N.P., et al. Evolutionarily conserved gene expression patterns for affective disorders revealed using cross-species brain transcriptomic analyses in humans, rats and zebrafish // *Sci Rep.* 2022. Vol. 12. ID 20836. DOI: 10.1038/s41598-022-22688-x
64. Stewart A., Ferdous F. The developing utility of *Danio rerio* in modeling neurobehavioral disorders // *Int J Comp Psychol.* 2010. Vol. 23, No. 1. P. 104–121. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035

REFERENCES

1. Comninou AN, Wall MB, Demetriou L, et al. Kisspeptin modulates sexual and emotional brain processing in humans. *J Clin Invest*. 2017;127(2):709–719. DOI: 10.1172/JCI89519
2. Comninou AN, Dhillo WS. Emerging roles of kisspeptin in sexual and emotional brain processing. *Neuroendocrinology*. 2018;106(2):195–202. DOI: 10.1159/000481137
3. Mills EGA, O'Byrne KT, Comninou AN. Kisspeptin as a behavioral hormone. *Semin Reprod Med*. 2019;37(2):56–63. DOI: 10.1055/s-0039-3400239
4. Mills EGA, O'Byrne KT, Comninou AN. The roles of the amygdala kisspeptin system. *Semin Reprod Med*. 2019;37(2):64–70. DOI: 10.1055/s-0039-3400462
5. Zhu Y, Wu X, Zhou R, et al. Hypothalamic-pituitary-end-organ axes: hormone function in female patients with major depressive disorder. *Neurosci Bull*. 2021;37(2):1176–1187. DOI: 10.1007/s12264-021-00689-6
6. Oyola MG, Handa RJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. *Stress*. 2017;20(5):476–494. DOI: 10.1080/10253890.2017.1369523
7. Lehman MN, Hileman SM, Goodman RL. Neuroanatomy of the kisspeptin signaling system in mammals: Comparative and developmental aspects. Kauffman A, Smith J, editors. *Kisspeptin signaling in reproductive biology. Advances in experimental medicine and biology*. Vol. 784. New York: Springer, 2013. P. 27–62. DOI: 10.1007/978-1-4614-6199-9_3
8. Hellier V, Brock O, Bakker J. The role of kisspeptin in sexual behavior. *Semin Reprod Med*. 2019;37(2):84–92. DOI: 10.1055/s-0039-3400992
9. Colledge WH. GPR54 and kisspeptins. Orphan G Protein-coupled receptors and novel neuropeptides. Civelli O, Zhou QY, editors. *Results and problems in cell differentiation*. Vol. 46. Berlin: Springer, 2008. P.117–143. DOI: 10.1007/400_2007_050
10. Kitahashi T, Ogawa S, Parhar IS. Cloning and expression of kiss2 in the zebrafish and medaka. *Endocrinology*. 2009;150(2):821–831. DOI: 10.1210/en.2008-0940
11. Gopurappilly R, Ogawa S, Parhar IS. Functional significance of GnRH and kisspeptin, and their cognate receptors in teleost reproduction. *Front Endocrinol*. 2013;8(4):24. DOI: 10.3389/fendo.2013.00024
12. Ogawa S, Ng KW, Ramadasan PN, et al. Habenular Kiss1 neurons modulate the serotonergic system in the brain of zebrafish. *Endocrinology*. 2012;153(5):2398–2407. DOI: 10.1210/en.2012-1062
13. Amo R, Aizawa H, Takahoko M, et al. Identification of the zebrafish ventral habenula as a homolog of the mammalian lateral habenula. *J Neurosci*. 2010;30(4):1566–1574. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3690-09.2010
14. Brailoiu GC, Dun SL, Ohsawa M, et al. KiSS-1 expression and metastin-like immunoreactivity in the rat brain. *J Comp Neurol*. 2005;481(3):314–329. DOI: 10.1002/cne.20350
15. Overgaard A, Tena-Sempere M, Franceschini I, et al. Comparative analysis of kisspeptin-immunoreactivity reveals genuine differences in the hypothalamic Kiss1 systems between rats and mice. *Peptides*. 2013;45:85–90. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.04.013
16. Lee DK, Nguyen T, O'Neill GP, et al. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Lett*. 1999;446(1):103–107. DOI: 10.1016/S0014-5793(99)00009-5
17. Higo S, Honda S, Iijima N, et al. Mapping of kisspeptin receptor mRNA in the whole rat brain and its co-localisation with oxytocin in the paraventricular nucleus. *J Neuroendocrinol*. 2016;28(4):1–8. DOI: 10.1111/jne.12356
18. Servili A, Le Page Y, Leprince J, et al. Organization of two independent kisspeptin systems derived from evolutionary-ancient kiss genes in the brain of zebrafish. *J Endocrinol*. 2011;152(4):1527–1540. DOI: 10.1210/en.2010-0948
19. Song Y, Duan X, Chen J, et al. The distribution of kisspeptin (Kiss)1- and Kiss2 — Positive neurones and their connections with gonadotrophin-releasing hormone-3 neurones in the zebrafish brain. *J Neuroendocrinol*. 2015;27(3):198–211. DOI: 10.1111/jne.12251
20. Song Y, Chen J, Tao B, et al. Kisspeptin2 regulates hormone expression in female zebrafish (*Danio rerio*) pituitary. *J Mol Cell Endocrinol*. 2020;513:110–858. DOI: 10.1016/j.mce.2020.110858
21. Selvaraj S, Kitano H, Fujinaga Y, et al. Molecular characterization, tissue distribution, and mRNA expression profiles of two Kiss genes in the adult male and female chub mackerel (*Scomber japonicus*) during different gonadal stages. *Gen Comp Endocrinol*. 2010;169(1):28–38. DOI: 10.1016/j.ygcen.2010.07.011
22. Shahjahan M, Motohashi E, Doi H, Ando H. Elevation of Kiss2 and its receptor gene expression in the brain and pituitary of grass puffer during the spawning season. *Gen Comp Endocrinol*. 2010;169(1):48–57. DOI: 10.1016/j.ygcen.2010.07.008
23. Alvarado MV, Carrillo M, Felip A. Expression of kisspeptins and their Receptors, *gnrh/gnrhr-II-1a* and gonadotropin genes in the brain of adult male and female European sea bass during different gonadal stages. *Gen Comp Endocrinol*. 2013;187:104–116. DOI: 10.1016/j.ygcen.2013.03.030
24. Ogawa S, Sivalingam M, Anthonysamy R, Parhar IS. Distribution of Kiss2 receptor in the brain and its localization in neuroendocrine cells in the zebrafish. *Cell and Tissue Res*. 2020;379(2):349–372. DOI: 10.1007/s00441-019-03089-5
25. Felip A, Zanuy S, Pined R, et al. Evidence for two distinct KiSS genes in non-placental vertebrates that encode kisspeptins with different gonadotropin-releasing activities in fish and mammals. *J Mol Cell Endocrinology*. 2009;312(1–2):61–71. DOI: 10.1016/j.mce.2008.11.017
26. Spence R, Gerlach G, Lawrence C, Smith C. The behaviour and ecology of the *Danio rerio*. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2008;83(1):13–34. DOI: 10.1111/j.1469-185X.2007.00030.x
27. Maximino C, de Brito MT, Colmanetti R, et al. Parametric analyses of anxiety in *Danio rerio* scototaxis. *Behav Brain Res*. 2010;210(1):1–7. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.01.031
28. Miklosi A, Andrew RJ. The zebrafish as a model for behavioral studies. *Zebrafish*. 2006;3(2):227–234. DOI: 10.1089/zeb.2006.3.227
29. Wong K, Elegante M, Bartels B, et al. Analyzing habituation responses to novelty in *Danio rerio* (*Danio rerio*). *Behav Brain Res*. 2010;208(2):450–457. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.12.023
30. Barcellos LJG, Koakoski G, Da Rosa JGS, et al. Chemical communication of predation risk in zebrafish does not depend on cortisol increase. *Sci Rep*. 2014;4:5076. DOI: 10.1038/srep05076
31. Kalluef AV, Stewart AM, Gerlai R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Cell Press*. 2014;35(2):63–75. DOI: 10.1016/j.tips.2013.12.002
32. O'Connor CM, Reddon AR, Odetunde A, et al. Social cichlid fish change behavior in response to a visual predator stimulus, but not the odour of damaged conspecifics. *Behav Processes*. 2015;121:21–29. DOI: 10.1016/j.beproc.2015.10.002
33. Shabanov PD, Lebedev VA, Lebedev AA, Bychkov ER. Effect of novelty stress on behavioral responses of *Danio rerio* and assessment of dose-dependent effects of anxiolytics of benzodiazepine structure with phenazepam as an example. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(3):57–63. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF15357-63

34. Shabanov PD, Blazhenko AA, Devyashin AS, et al. In search of new brain biomarkers of stress. *Res Results Pharmacol.* 2021;7(1): 41–46. DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.63326
35. Cachat J, Stewart A, Grossman L, Kalueff AV. Measuring behavioral and endocrine responses to novelty stress in adult *Danio rerio*. *Nat Protoc.* 2010;5(11):1786–1789. DOI: 10.1038/nprot
36. Devyashin AS, Blazhenko AA, Lebedev VA, et al. Assessment of dose-dependent effects of anxiolytics of benzodiazepine structure with diazepam as an example in *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2020;18(1):43–49. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF18143-49
37. Eresko SO, Airapetov MI, Matveeva NA, et al. *Danio rerio* as a model object in drug research. *Narcology.* 2020;19(4):43–48. DOI: 10.25557/1682-8313
38. Blazhenko AA, Khokhlov PP, Tissen IY, et al. Benzodiazepine tranquilizers abolish the stress-induced increase of the brain ghrelin level in DANIO RERIO. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2020;18(4):327–332. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF184327-332
39. Lebedev VA, Lebedev AA, Bychkov ER, Shabanov PD. Probability Of Using The Behavioral Responses Of *Danio rerio* In Assessment Of Dose-Dependent Effects Of Phenazepam. *Laboratory Animals for Science.* 2018;(1):12–21. (In Russ.) DOI: 10.29926/2618723X-2018-01-02
40. Adamec R, Walling S, Burton P. Long-lasting, selective, anxiogenic effects of feline predator stress in mice. *Physiol Behav.* 2004;83(3):401–410. DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.08.029
41. Zoladz PR, Conrad CD, Fleshner M, Diamond DM. Acute episodes of predator exposure in conjunction with chronic social instability as an animal model of post-traumatic stress disorder. *Stress.* 2008;11(4):259–281. DOI: 10.1080/10253890701768613
42. Zoladz PR, Fleshner M, Diamond DM. Differential effectiveness of tianeptine, clonidine and amitriptyline in blocking traumatic memory expression, anxiety and hypertension in an animal model of PTSD. *Prog Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry.* 2013;44:1–16. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2013.01.001
43. Zohar J, Matar MA, Ifergane G, et al. Brief post stressor treatment with pregabalin in an animal model for PTSD: short-term anxiolytic effects without long-term anxiogenic effect. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2008;18(9):653–666. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2008.04.009
44. Mackenzie L, Nalivaiko E, Beig MI, et al. Ability of predator odour exposure to elicit conditioned versus sensitized post-traumatic stress disorder-like behaviours, and forebrain delta Fos B expression, in rats. *Neuroscience.* 2010;169(2):733–742. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.05.005
45. Cohen H, Liu T, Kozlovsky N, et al. The neuropeptide Y (NPY)-ergic system is associated with behavioral resilience to stress exposure in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2012;37(2):350–363. DOI: 10.1038/npp.2011.230
46. Bronmark C, Miner JG. Predator-induced phenotypical change in body morphology in crucian carp. *Science.* 1992;258(5086): 1348–1350. DOI: 10.1126/science.258.5086.1348
47. Ferrari MCO, Chivers DP, Wisenden BD. Chemical ecology of predator-prey interactions in aquatic ecosystems: a review and prospectus. *Can J Zool.* 2010;88(7):698–724. DOI: 10.1139/Z10-029
48. Chivers DP, Mirza RS. Predator diet cues and the assessment of predation risk by aquatic vertebrates: a review and prospectus. Marchlewska-Koj A, Lepri JJ, Müller-Schwarze D, editors. *Chemical Signals in Vertebrates 9*. Boston: Springer, 2001. P. 277–284. DOI: 10.1007/978-1-4615-0671-3_37
49. Dawidowicz P, Loose CJ. Metabolic costs during predator-induced dielvertical migration of *Daphnia*. *Limnol Oceanogr.* 1992;37(8): 1589–1595. DOI: 10.4319/lo.1992.37.8.1589
50. Fonner CW, Woodley SK. Testing the predation stress hypothesis: behavioural and hormonal responses to predator cues in Allegheny Mountain dusky salamanders. *Behaviour.* 2015;152(6):797–819. DOI: 10.1163/1568539X-00003254
51. Gazzola A, Brandalise F, Rubolini D, et al. Fear is the mother of invention: anuran embryos exposed to predator cues alter lifehistory traits, post-hatching behaviour and neuronal activity patterns. *J Exp Biol.* 2015;218(24):3919–3930. DOI: 10.1242/jeb.126334
52. Hazlett BA. Responses to multiple chemical cues by the crayfish *Orconectes virilis*. *Behaviour.* 1999;136(2):161–177. DOI: 10.1651/C-2595.1
53. Foam PE, Harvey MC, Mirza RS, Brown GE. Heads up: juvenile convict cichlids switch to threat-sensitive foraging tactics based on chemosensory information. *Anim Behav.* 2005;70(3):601–607. DOI: 10.1016/j.anbehav.2004.12.011
54. Briones-Fourzán P, Ramírez-Zaldívar E, Lozano-Álvarez E. Influence of conspecific and heterospecific aggregation cues and alarm odors on shelter choice by syntopic spiny lobsters. *Biol Bull.* 2008;215(2):182–190. DOI: 10.2307/25470699
55. Mitchell MD, Bairos-Novak KR. Mechanisms underlying the control of responses to predator odours in aquatic prey. *J Exp Biol.* 2017;220(11):1937–1946. DOI: 10.1242/jeb.135137
56. Derby CD, Sorensen PW. Neural processing, perception, and behavioral responses to natural chemical stimuli by fish and crustaceans. *J Chem Ecol.* 2008;34(7):898–914. DOI: 10.1007/s10886-008-9489-0
57. Døving KB, Lastein S. The alarm reaction in fishes-odorants, modulations of responses, neural pathways. *Ann NY Acad Sci.* 2009;1170(1):413–423. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04111.x
58. Hamdani EH, Døving KB. Sensitivity and selectivity of neurons in the medial region of the olfactory bulb to skin extract from conspecifics in crucian carp, *Carassius carassius*. *Chem Senses.* 2003;28(3):181–189. DOI: 10.1093/chemse/28.3.181
59. Brown GE, Ferrari MCO, Elvidge CK, et al. Phenotypically plastic neophobia: a response to variable predation risk. *Proc R Soc B Biol Sci.* 2013;280(1756):20122712. DOI: 10.1098/rspb.2012.2712
60. Mitchell MD, Chivers DP, Brown GE, Ferrari MCO. Living on the edge: how does environmental risk affect the behavioural and cognitive ecology of prey? *Anim Behav.* 2016;115:185–192. DOI: 10.1016/j.anbehav.2016.03.018
61. Orr MV, El-Bekai M, Lui M, et al. Predator detection in *Lymnaea stagnalis*. *J Exp Biol.* 2007;210(23):4150–4158. DOI: 10.1242/jeb.010173
62. Brown C, Braithwaite VA. Effects of predation pressure on the cognitive ability of the poeciliid *Brachyrhaphis episcopi*. *Behav Ecol.* 2005;16(2):482–487. DOI: 10.1093/beheco/ari016
63. Demin KA, Krotova NA, Ilyin NP, et al. Evolutionarily conserved gene expression patterns for affective disorders revealed using cross-species brain transcriptomic analyses in humans, rats and zebrafish. *Sci Rep.* 2022;12:20836. DOI: 10.1038/s41598-022-22688-x
64. Stewart A, Ferdous F. The developing utility of *Danio rerio* in modeling neurobehavioral disorders. *Int J Comp Psychol.* 2010;23(1):104–121. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035

ОБ АВТОРАХ

Владанка Александровна Гольц, аспирант;
e-mail: digitalisobscura@mail.ru

***Андрей Андреевич Лебедев**, д-р биол. наук,
профессор, заведующий лабораторией;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0297-0425>;
eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

Александра Александровна Блаженко, младший научный
сотрудник; eLibrary SPIN: 8762-3604;
e-mail: alexandrablazhenko@gmail.com

Виктор Андреевич Лебедев, канд. биол. наук, научный
сотрудник; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-8106>;
eLibrary SPIN: 1103262; e-mail: vitya-lebedev-57@mail.ru

Алекбер Азизович Байрамов, д-р мед. наук,
ведущий научный сотрудник; eLibrary SPIN: 9802-9988;
e-mail: alekber@mail.ru

Платон Платонович Хохлов, канд. биол. наук, старший
научный сотрудник; e-mail: platonkh@list.ru

Евгений Рудольфович Бычков, канд. мед. наук, заведующий
лабораторией; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8911-6805>;
eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

Сарнг Саналович Пурвеев, научный сотрудник;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4467-2269>;
eLibrary SPIN: 5915-9767; e-mail: dr.purveev@gmail.com

Сергей Владимирович Казаков, аспирант;
e-mail: svkazakov@mail.ru

Петр Дмитриевич Шабанов, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>;
eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

Vladanka A. Goltz, post-graduate fellow;
e-mail: digitalisobscura@mail.ru

***Andrei A. Lebedev**, Dr. Sci. (Biol.),
Head of the Laboratory;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0297-0425>;
eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

Aleksandra A. Blazhenko, junior research assistant;
eLibrary SPIN: 8762-3604;
e-mail: alexandrablazhenko@gmail.com

Viktor A. Lebedev, Cand. Sci. (Biol.), research associate;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-8106>;
eLibrary SPIN: 1103262; e-mail: vitya-lebedev-57@mail.ru

Alekber A. Bayramov, Dr. Sci. (Med.),
leading researcher; eLibrary SPIN: 9802-9988;
e-mail: alekber@mail.ru

Platon P. Khokhlov, Cand. Sci. (Biol.);
senior researcher; e-mail: platonkh@list.ru

Eugenii R. Bychkov, Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8911-6805>;
eLibrary SPIN: 9408-0799; e-mail: bychkov@mail.ru

Sarng S. Pyurveev, researcher;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4467-2269>;
eLibrary SPIN: 5915-9767; e-mail: dr.purveev@gmail.com

Sergei V. Kazakov, post-graduate fellow;
e-mail: svkazakov@mail.ru

Petr D. Shabanov, Dr. Sci. (Med.), professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>;
eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru