



Альтернативная модель *Danio rerio* для скрининговой оценки термо- и фригопротекторного действия фармакологических соединений

Ревакин А. О.

ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Внедрение принципов биоэтики в научные биомедицинские исследования заставляет искать и разрабатывать новые альтернативные модели, в том числе для скрининга потенциальных фармакологических соединений. Основная трудность при разработке альтернативных биомodelей заключается в создании состояния или патологии, максимально приближённых к человеческим как по механизму развития такого процесса, так и по ответу на фармакологическую коррекцию. Гидробионты, обладая сопоставимостью физиологических реакций с высшими животными, имеют, в том числе, схожие по строению и функционалу органы и ткани и очень большой потенциал для скрининговых исследований и экспериментальной фармакологии. Они удовлетворяют современным этическим представлениям и нормам, ограничивающим область применения высших животных в экспериментальных исследованиях. В статье приведены результаты работы по созданию альтернативной модели на рыбах *Danio rerio* для оценки термо- и фригопротекторных свойств фармакологических соединений. Показана возможность моделирования на рыбах состояний гипо- и гипертермии в лабораторных условиях. Разработана балльная оценка состояния рыб. Определены критерии оценки гипо- и гипертермий. Проведена фармакологическая валидация созданной модели с референсными препаратами. Показана возможность использования данной модели для скринингового изучения термо- и фригопротекторной активности фармакологических соединений.

Ключевые слова: Данио рерио; альтернативная биомодель; фармакологическая активность; термопротекторы; фригопротекторы

Для цитирования:

Ревакин А. О. Альтернативная модель *Danio rerio* для скрининговой оценки термо- и фригопротекторного действия фармакологических соединений. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(3):65–69. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-3-65-69>. EDN: MBCNTU

Поступила: 23.08.2025. **В доработанном виде:** 23.09.2025. **Принята к печати:** 27.09.2025. **Опубликована:** 30.09.2025.

Alternative model *Danio rerio* for screening evaluation of thermo- and frigoprotective action of pharmacological compounds

Artem O. Revyakin

Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russian Federation

Abstract

The introduction of bioethical principles into scientific biomedical research necessitates the search for and development of new alternative models, including those for screening potential pharmacological compounds. The main difficulty in developing alternative biomodels is the creation of a condition or pathology as close as possible to human ones both in terms of the mechanism of development of such a process and in terms of the response to pharmacological correction. Hydrobionts, possessing physiological reactions comparable to higher animals, have, among other things, organs and tissues similar in structure and functionality and have very great potential for screening studies and experimental pharmacology. They satisfy modern ethical concepts and norms limiting the scope of use of higher animals in experimental research. The article presents the results of work on the creation of an alternative model of *Danio rerio* for assessing the thermo- and frigoprotective properties of pharmacological compounds. The possibility of modeling hypo- and hyperthermia states in fish under laboratory conditions is demonstrated. A scoring system for assessing the condition of fish has been developed. Criteria for assessing hypo- and hyperthermia are defined. Pharmacological validation of the developed model was conducted using reference drugs. The model's potential for screening the thermo- and frigoprotective activity of pharmacological compounds was demonstrated.

Keywords: *Danio rerio*; alternative biomodel; pharmacological activity; thermoprotectors; frigoprotectors

For citations:

Revyakin AO. Alternative model *Danio rerio* for screening evaluation of thermo- and frigoprotective action of pharmacological compounds. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(3):65–69. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-3-65-69>. EDN: MBCNTU

Received: 23.08.2025. **Revision received:** 23.09.2025. **Accepted:** 27.09.2025. **Published:** 30.09.2025.

Введение / Introduction

Важнейшим этапом первичной оценки потенциальных соединений и перспективных лекарственных средств является скрининг их фармакологической активности, от достоверного результата которого зависит дальнейшее рациональное распределение финансовых и трудовых ресурсов. Этот биологический этап на данный момент невозможен без участия живых организмов (био-моделей), на которых в соответствии с нормативами, в том числе биоэтическими, проводят исследования [1, 2].

Основными животными при этом являются млекопитающие — чаще всего лабораторные грызуны — мыши и крысы [3]. Однако биоэтические принципы предполагают постепенную замену млекопитающих в экспериментах (там, где это возможно) на альтернативных животных, стоящих на более низкой эволюционной ступени, но при сохранении достоверных данных.

Одними из таких альтернативных моделей могут быть гидробионты и некоторые беспозвоночные, представители которых обладают сопоставимостью физиологических реакций с высшими животными, имеют схожие по строению и функционалу органы и ткани и обладают специфическими свойствами, позволяющими расширить представления о спектре действия тестируемого фактора на биосистему. Они удовлетворяют современным этическим представлениям и нормам, ограничивающим область применения высших животных в экспериментальных исследованиях. Вместе с тем они ограниченно представлены в качестве биологических моделей, но имеют очень большой потенциал для скрининговых исследований и экспериментальной фармакологии [4].

Одно из направлений фармакологии — разработка средств поддержки жизнедеятельности организма при экстремальных температурных воздействиях, приводящих как к общему перегреванию (состояние гипертермии), так и общему охлаждению организма (замерзание, гипотермия). Возникновение у человека неблагоприятных температурных состояний связано либо с воздействием климатогеографических факторов среды обитания (пустыни, тропические леса, Арктика, Антарктика), либо производственной деятельности (работа в жарких цехах, в изолирующем снаряжении, на акватории северных морей, в высокогорье), либо в результате аварий (пожары, кораблекрушения).

Для релевантных моделей общие температурные воздействия моделируются помещением животных или в воздушную, или в водную среду соответствующей температуры (+35...+40 °C для условий гипертермии, +5...+8 °C для воздушной гипотермии при условии повышенной влажности или периодического орошения шкурки животного и +10...+12 °C для иммерсионной гипотермии [5–7]. В качестве критериев оценки переносимости теплового или холодового воздействия обычно используются такие показатели, как длительность жизни на фоне воздействия, выживаемость на

фиксированные временные точки (например, 30 или 60 мин), динамика ректальной температуры, а также время предельного плавания с грузом 5 % в воде заданного температурного диапазона [8].

Целью данной работы являлось создание адекватной альтернативной модели для скрининговой оценки термо- и фригопротекторного действия фармакологических средств и её фармакологическая валидация.

Для гидробионтов существует только один способ формирования состояния гипо- и гипертермии — пребывание в воде с пониженной или повышенной температурой. Критерием уровня устойчивости при этом будет длительность пребывания до развития очевидных признаков холодового или теплового стресса, к которым относятся изменения поведения и двигательной активности.

В процессе эксперимента была разработана балльная шкала оценки состояния *Danio rerio*, учитывающая преимущественное положение рыбок в ёмкости для исследования, характер двигательной активности, координацию, позы, положение тела, а также частоту движения жаберных щелей (табл. 1). Максимальное количество баллов по предлагаемой шкале — 20.

Для разработки модели оценки уровня тепловой устойчивости *Danio rerio* была выполнена отдельная серия исследований, в которой рыбки помещались в воду с возрастающими или снижающимися значениями температуры при обычном режиме газообмена между воздухом и водой. Моделирование пониженных температур достигалось путём внесения кусочков льда, полученных путём предварительного замораживания отстоянной фильтрованной воды и равномерном распределении температуры с использованием погруженного аэратора. Достижение высоких температур обеспечивалось подогревом воды термоковриком для рептилий, установленным под ёмкостью, и аквариальным нагревателем. Равномерность температуры также обеспечивалась погружённым аэратором. Каждые 5 минут фиксировались особенности их двигательной активности и поведения, которые затем переводились в баллы в соответствии с данными табл. 1. Балльная динамика состояния *Danio rerio* представлена в табл. 2.

Наблюдение за поведением *Danio rerio* в воде с температурой 14–16 °C показало резкое снижение двигательной активности, придонное положение рыбок, движение жабр замедленно и неритмично. Расчётный индекс состояния (отношение общего суммарного балла оценки состояния к максимальному количеству баллов) резко снижен до 0,55, что отражает развитие выраженного холодового нарушения нервной деятельности и метаболизма в целом. Таким образом, критическими для рыбок в условиях гипотермии являются пребывание в течение 20 мин в воде с температурой 14–16 °C. Следовательно, признаком фригопротекторного действия лекарственных средств при использовании данной модели на *Danio rerio* бу-

Таблица 1

Балльная шкала оценки состояния *Danio rerio*

Table 1

Danio rerio condition score scale

Признак	Балл
<i>Положение в ёмкости (установке для исследований)</i>	
Преимущественно верховое	5
Преимущественно срединное	4
Преимущественно придонное	3
Частая смена придонного на верховое	2
Резкие кратные перемещения по вертикали	1
Рандомные резкие перемещения со сменой положения тела (боковое, вверх брюхом)	0
<i>Характер двигательной активности</i>	
Активные, движения равномерные по скорости	10
Активные, движения с хаотичной сменой направления	9
Активность пониженная, движения плавные, замедленные	8
Активность снижена, движения заторможенные	7
Ажитация, движения не равномерные, рывками, с нормальным положением тела	6
Ажитация, чередующаяся с зависанием, движения хаотичные с широким диапазоном положений	5
Изменение оси положения тела под углом 20° и более к горизонтали	
Активность низкая. Движения минимальные	4
Вертикальные метания. Рывки. Полная остановка	3
Нарушение координации, временные утраты позы	2
Агонические сокращения	1
Движения отсутствуют	0
<i>Движения жаберных крышек</i>	
Обычные, ритмичные	5
Ускоренные/замедленные	4
Учащение/замедление более чем в 3 раза	3
Неритмичные	2
Агональные	1
Отсутствуют	0
Максимальный балл	20

Таблица 2

Динамика балльного показателя состояния рыбок *Danio rerio* при их пребывании в среде с различной температурой (средние по группе, $n = 10$)

Table 2

Dynamics of the score indicator of the condition of *Danio rerio* fish when they stay in an environment with different temperatures (average for the group, $n = 10$)

Температура воды, °C	Длительность воздействия гипотермии (мин)					
	5	10	15	20	25	30
14	13	11	11	10	10	10
16	17	14	13	12	12	12
18	19	17	16	15	15	15
20	20	20	19	19	19	18
22	20	20	20	20	20	20
24	20	20	20	20	20	20
26	20	20	20	20	20	20
28	19	19	19	19	19	18
30	18	18	17	16	16	16
32	17	17	16	16	16	15
34	17	16	14	14	13	13
36	16	16	14	13	13	13

дуг улучшение их состояния по баллам комплексной оценки поведения и двигательной активности и увеличение длительности периода сохранения приемлемых для рыбок показателей поведенческой активности.

Данные таблицы 2 показывают, что температура воды в диапазоне 30–32 °С и длительность экспозиции 20 минут достаточно, чтобы зафиксировать у рыбок состояние теплового стресса (гипертермии), проявляющееся изменением преимущественного их положения в аквариуме, появления хаотичности в движениях, замедление, ускорение и нестабильность двигательной активности, учащение движений жаберных щелей. Индекс состояния для рыбок на этой точке был равен 0,80, т. е. состояние *Danio rerio* было хуже оптимального на 20 %. Эти показатели и были приняты за параметры модели.

Для фармакологической валидации модели были выбраны 2 препарата — фумаровая соль янтарного эфира диметиламиноэтанола (ФДМАЭС) и кортексин, для которых ранее были выявлены термо- и фригопротекторные эффекты [9, 10].

Исследуемые препараты растворяли в аквариумной воде до концентраций 250 мг/л (ФДМАЭС) и 25 мг/л (кортексин), что соответствует концентрации препарата в крови при применении средних терапевтических доз. В каждой исследуемой группе было по 10 рыбок. Результаты исследования термопротекторной активности этих соединений на *Danio rerio* представлены в табл. 3.

Представленные в таблице 3 данные показывают, что контрольная группа рыбок *Danio rerio* достигла

порогового значения поведенческих проявлений термостресса к 20-й минуте пребывания в условиях гипертермии, при более выраженном ухудшении состояния к 40-й минуте. Оба препарата отодвигали проявления у рыбок тепловых нарушений двигательной активности и поведения на 20–25 мин, что является статистически достоверным признаком термопротекторного действия ($p = 8 \times 10^{-5}$, метод точной вероятности Фишера).

Результаты исследования фригопротекторной активности этих соединений на *Danio rerio* представлены в табл. 4.

Оба исследуемых препарата характеризовались более высокими показателями поведенческой и двигательной активности рыбок в условиях гипотермии, что сопровождалось улучшением значений индекса состояния на 20-й минуте с 0,55 до 0,70 для ФДМАЭС и 0,85 для кортексина (отличия от контроля достоверны $p = 4,6 \times 10^{-5}$, метод точной вероятности Фишера). Различия между препаратами проявлялись на раннем временном диапазоне (преимущество было у кортексина), но в более поздние сроки разница в количественной оценке фригопротекторного действия сглаживалась и после 35-й минуты уже не определялась. Таким образом подтверждена адекватность предложенной модели *Danio rerio* для оценки термо- и фригопротекторов.

В результате эксперимента была разработана и валидирована альтернативная биомодель *Danio rerio*, подходящая для задач скринингового исследования фармакологических средств с предположительной фриго- и термопротекторной активностью.

Таблица 3

Термопротекторные эффекты ФДМАЭС и кортексина в отношении поведения аквариумных рыбок *Danio rerio* при их пребывании в воде с температурой 30–32 °С (баллы поведенческой и двигательной активности, средние по группе, $n = 10$)

Table 3

Thermoprotective effects of FDMAES and cortexin on the behavior of *Danio rerio* aquarium fish when they stay in water with a temperature of 30–32 °C (behavioral and motor activity scores, average for the group, $n = 10$)

Группа	Длительность экспозиции, мин								
	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Контроль	18	18	17	16	16	16	14	13	13
ФДМАЭС	20	20	19	19	19	19	17	17	16
Кортексин	20	20	20	20	19	19	19	17	17

Таблица 4

Фригопротекторные эффекты ФДМАЭС и кортексина в отношении поведения рыбок *Danio rerio* при их пребывании в воде с температурой 14–16 °С (баллы поведенческой и двигательной активности, средние по группе, $n = 10$)

Table 4

Frigoprotective effects of FDMAES and cortexin on the behavior of *Danio rerio* fish when they are kept in water at a temperature of 14–16 °C (behavioral and motor activity scores, average for the group, $n = 10$)

Группа	Длительность экспозиции, мин								
	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Контроль	14	13	12	11	11	11	11	10	10
ФДМАЭС	19	17	17	14	14	14	13	13	13
Кортексин	19	19	18	17	17	17	14	13	12

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов..

Финансирование

Работа выполнена без спонсорской поддержки.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The author declares that there is no conflict of interest.

Funding

The work was carried out without sponsorship.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Ревякин Артем Олегович — к. б. н., доцент кафедры зоотехнии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Российская Федерация
Автор ответственный за переписку
e-mail: ar_info@mail.ru
РИНЦ SPIN-код: 4922-3200

Artem O. Revyakin — APhD, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Chair of Animal Science, Timiryazev University, Moscow, Russian Federation
Corresponding autor
e-mail: ar_info@mail.ru
RSCI SPIN code: 4922-3200

Список литературы / References

1. Васильев А.Н., Ниязов Р.Р., Гавришина Е.В., и др. Проблемы планирования и проведения доклинических исследований в Российской Федерации. *Ремедиум*. 2017;9:6-18. [Vasiliev AN, Niyazov RR, Gavrishina EV, Dranytsina MA, et al. Problems of planning and conduct of preclinical trials in the Russian Federation. *Remedium*. 2017;9:6-18. (In Russ.)]. doi: 10.21518/1561-5936-2017-9-6-18. EDN: ZOLGIP
2. Тюренков И.Н., Ломкина Е.М., Куркин Д.В., и др. Этические аспекты доклинических исследований. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015;(3):36-41. [Tyurenkov IN, Lomkina EM, Kurkin DV, et al. Ethical implications of preclinical studies. *Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin*. 2015;(3):36-41. (In Russ.)]. EDN: UJJUVP
3. Макарова М.Н., Матичин А.А., Матичина А.А., Макаров В.Г. Принципы выбора животных для научных исследований. Сообщение 1. Выбор модельных организмов на основании филогенетических связей. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022;5(2):58-70. [Makarova MN, Matichin AA, Maticina AA, Makarov VG. Animal choice strategy for research. Report 1: animal choice based on phylogenetic relationships. *Laboratory Animals for Science*. 2022;5(2):58-70. (In Russ.)]. doi: 10.29296/2618723X-2022-02-07. EDN: SBSPNR
4. Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Ревякин А.О., и др. Использование гидробионтов в качестве альтернативных биомоделей. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2017;103(8):912-929. [Pronina GI, Koryagina NYu, Revyakin AO, et al. The use of hydrobionts as alternative biomodels. *Russian journal of physiology*. 2017;103(8):912-929. (In Russ.)]. EDN: ZCMNVL
5. Муравьев А.В. Влияние тепловой тренировки и препарата бемитил на адаптацию животных и человека к условиям высокой температуры внешней среды : автореферат дис. ... кандидата медицинских наук : 03.00.16, 14.00.25 / НИИ военной медицины. Санкт-Петербург; 1998. 24 с. [Muravyov AV. The Effect of Thermal Training and the Preparation Bemithyl on the Adaptation of Animals and Humans to High-Temperature Environments: Abstract of a Dissertation for the Degree of Candidate of Medical Sciences: 03.00.16, 14.00.25 / Research Institute of Military Medicine. Saint Petersburg, 1998. (In Russ.)]. EDN: ZIYRKP

6. Новиков В.С. Дезадаптационные состояния человека при экстремальных воздействиях и их коррекция [Текст] : [монография] / В.С. Новиков, С.И. Сороко, Е.Б. Шустов. Санкт-Петербург: Политехника-принт, 2018. 547 с. [Novikov VS. Maladaptation states of a person under extreme influences and their correction [Text] : [monograph] / VS Novikov, SI Soroko, EB Shustov. St. Petersburg: Polytechnic Print, 2018. (In Russ.)]. ISBN 978-5-907050-19-8. EDN: XYPHID
7. Шустов Е.Б., Капанадзе Г.Д., Фокин Ю.В., Матвеев Е.Л. Методические особенности биомедицинских исследований влияния фармакологических средств на устойчивость организма к острой общей гипотермии. *Биомедицина*. 2017;(3):4-15. [Shustov EB, Kapanadze GD, Fokin YuV, Matveyenko EL. Methodical features of biomedical research of the influence of pharmacological agents on the resistance of the organism to acute general hypothermia. *Biomedicine*. 2017;(3):4-15. (In Russ.)]. EDN: ZHYWHT
8. Новиков В.С. Физиология экстремальных состояний / В.С. Новиков, В.М. Голянич, Е.Б. Шустов; Рос. акад. наук. Отд-ние физиологии. СПб. : Наука, 1998. 247 с. [Novikov VS. Physiology of Extreme States / VS Novikov, VM Golyanich, EB Shustov; RAS Department of Physiology. St. Petersburg: Nauka, 1998. (In Russ.)]. ISBN 5-02-026099-1. EDN: XSXQPI
9. Новиков В.С. Коррекция функциональных состояний при экстремальных воздействиях / В.С. Новиков, Е.Б. Шустов, В.В. Горанчук; [Рос. акад. наук. Отд-ние физиологии]. СПб. : Наука, 1998. 542 с. [Novikov VS. Correction of functional states under extreme conditions / VS Novikov, EB Shustov, VV Goranchuk; [Russian. Academy of Sciences. Department of Physiology]. St. Petersburg : Nauka Publ., 1998. (In Russ.)]. ISBN 5-02-026124-6. EDN: XSXTDX
10. Ким А.Е., Шустов Е.Б. Влияние нового производного диметиламиноэтанола, бутандиовой и транс-бутендиовой кислот на переносимость гипоксии, гипертермии и гипотермии. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2023;21(4):367-372. [Kim AE, Shustov EB. Influence of new dimethylaminoethanol derivatives, butanoic and trans-butenedioic acids, on the tolerability of hypoxia, hyperthermia, and hypothermia. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2023;21(4):367-372. (In Russ.)]. doi: 10.17816/RCF568686. EDN: IFPXF