САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Демин Константин Андреевич

Нейробиологические основы стресс-индуцированного аффективного патогенеза у *Danio rerio* и его трансляционная взаимосвязь с аффективным патогенезом крыс и человека

Научная специальность 1.5.24. Нейробиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук,

Калуев Алан Валерьевич

Санкт-Петербург – 2022

Оглавление

Введение ... 4

Хронический стресс, как модель аффективных патологий ... 4

Нейрохимические эффекты хронического стресса ... 5

Изменения транскриптома при хроническом стрессе ... 6

Поведенческие эффекты хронического стресса ... 8

Поведение «отчаяния» ... 8

Danio rerio ... 11

Глава 1 Разработка теста на определение поведения «отчаяния» у *Danio rerio* ... 19

1.1 Методы, животные и оборудование ... 19

1.2 Результаты ... 29

1.3 Обсуждение ... 37

Глава 2 Поведенческие, молекулярные и нейрохимические эффекты хронического непредсказуемого стресса у *Danio rerio* ... 45

2.1 Методы, животные и оборудование ... 45

2.2 Результаты ... 61

2.3 Обсуждение ... 73

Глава 3 Трансляционный анализ транскриптома мозга при аффективном патогенезе у *Danio rerio*, крыс и человека ... 81

3.1 Методы животные и оборудование ... 81

3.2 Результаты ... 94

3.3 Обсуждение ... 108

Заключение 116

Выводы 121

Благодарности 123

Список использованной литературы 125

Приложение А. Статистические и методологические таблицы 153

Введение

Хронический стресс, как модель аффективных патологий

Стресс, являясь естественным ответом организма на различные внешние и внутренние стимулы, представляет собой ключевой адаптивный механизм, призванный восстановить гомеостаз организма и выбрать оптимальную поведенческую стратегию ответа на стимулы (стрессоры). Результатом воздействия стрессора является краткосрочная активация комплексных нейроэндокринных механизмов, которая в благоприятных условиях приводит к адаптации к изменяющимся условиям среды [1, 2]. Однако, если интенсивность стрессоров превышает адаптивные возможности организма, может возникнуть нарушение нормальной функции систем, вовлеченных в стрессовую реакцию [3, 4]. Данные нарушения, связанные с патологиями нейроэндокринной, иммунной и других систем (например, избыточная активация гипотоламо-гипофизарно-адреналовой оси, высокие уровни кортизола в крови, повышенная экспрессия воспалительных цитокинов и др. [5-9]), тесно связаны с многими аффективными и тревожными расстройствами, включая большое депрессивное расстройство (БДР; депрессию), паническое расстройство, посттравматическое стрессовое расстройство и другие патологии [4, 10-12].

Являясь широко распространёнными и трудно поддающимися лечению, психические расстройства, связанные со стрессом, представляют собой одну из острых нерешенных проблем в трансляционной биомедицине [13-15]. Основной причиной отсутствия эффективных методов лечения данных патологий является плохое понимание конкретных механизмов, лежащих в их патогенезе [16, 17]. Экспериментальные (животные) модели широко используются для изучения патологических механизмов развития заболеваний, связанных с стрессом [18-20]. Одним из наиболее распространенных подходов к моделированию аффективных и тревожных расстройств, являются модели грызунов, основанные на парадигме хронического непредсказуемого стресса (ХНС) [21-26]. В своей основе ХНС представляет собой ежедневное предъявление мышам или крысам разнообразных (в целях предотвращения привыкания) стрессоров на протяжении

нескольких недель [23, 25, 27-29]. После продолжительного моделирования, животное вырабатывает характерный поведенческий фенотип, который связывают с тревожностью и депрессо-подобным состоянием [30-32]. Более того, биохимические и физиологические изменения, наблюдаемые в данной модели, воспроизводят характерные изменения, наблюдаемые в клинических исследованиях пациентов с аффективными расстройствами [33].

Нейрохимические эффекты хронического стресса

Несмотря на большой объем исследований в данной области, конкретная роль моноаминергических систем в патогенезе аффективных расстройств и других патологий, связанных с воздействием хронического стресса, остаются предметами обсуждения. Снижение уровня серотонина и их метаболитов, а также измененный профиль экспрессии серотонинового транспортера и серотониновых рецепторов в мозге совершивших суицид депрессивных пациентов [34-36], а также в животных моделях, послужили основанием для формулирования так называемой серотониновой теории депрессии, в которой основную патологическую роль приписывают дефициту в серотонергической передаче. Интересно, что в наше время данная теория не рассматривается как полноценно описывающая механизмы развития заболевания, но большая часть известных эффективных препаратов для лечения депрессии воздействуют на серотонергическую систему, например посредством селективного ингибирования обратного захвата серотонина (СИОЗС). Таким образом, общепринятым является представление о том, что нарушение серотонергической функции является важным фактором в развитии патогенеза аффективных расстройств. В моделях грызунов ХНС приводит к снижению концентрации серотонина в цельных образцах мозга, которое может быть связано с увеличением активности моноаминооксидазы-а (МАО-А) [37], в то время как состояние серотонергической системы в конкретных отделах мозга может отличаться. Большая часть исследований указывает на снижение содержания серотонина и/или оборота серотонина (выраженного в отношении серотонина к его метаболиту 5-гидроксииндолуксусной кислоте) в префронтальной коре [37-41],

гиппокампе [39, 42-45] и ядрах шва [46, 47]. В тоже время, другие исследования показывают отсутствие эффекта на серотонергическую систему в данных областях мозга [48-52], а одно исследование показало увеличение оборота серотонина в гиппокампе [48]. Некоторые исследования также указывают на снижение уровня серотонина и его оборота в гипоталамусе и полосатом теле [39, 43, 45, 47], в то время как другие исследования не нашли изменений в данных участках мозга [43, 48, 49, 53, 54]. В случае с миндалевидным телом, большая часть исследований не обнаружили изменений в серотонергической системе [51, 55], и только в одном исследовании было обнаружено увеличение оборота серотонина [56]. Наличие такого непостоянства в результатах осложняет однозначные выводы о роли моноаминов в патологиях, вызванных хроническим стрессом.

Изменения транскриптома при хроническом стрессе

ХНС грызунов также широко используется для изучения изменений экспрессии генов, вызванных стрессом, особенно в мозге. Большая часть таких исследований концентрируются на индивидуальном определении экспрессии генов, которые уже были описаны как связанные с стрессом и аффективными патологиями (например, методом количественной Полимеразной Цепной Реакции (ПЦР)). В тоже время, определение новых путей и мишеней для лечения данных расстройств может быть предпринято при помощи анализа полного транскриптома животного.

В большей части транскриптомных исследований не было обнаружено изменений, напрямую связанных с моноаминовыми нейромедиаторами. При этом, воздействие типичным СИОЗС флуоксетином приводит к выраженному восстановлению профиля экспрессии генов у грызунов, подвергнутых ХНС [57, 58]. Однако восстановление поведенческого фенотипа не обязательно приводит к нормализации транскриптома до уровня контрольной группы и, например, при ХНС продолжительностью в 7 недель у мышей флуоксетин восстановил экспрессию 75% генов в коре больших полушарий и всего 28% генов зубчатой извилины [57]. Более того, действие флуоксетина привело к большему изменению транскриптома, чем сам ХНС,

что выражалось в большем числе генов, изменивших свою экспрессию относительно контрольной группы [57].

В данном исследовании ХНС привел к снижению экспрессии субъединиц рецепторов глутамата (*Grin2a*, *Grin2b*, *Grin2c*, *Grin3a*, *Gria4* и *Grm3-8*) в коре больших полушарий и миндалевидном теле [57]. В тоже время, 5 недельный ХНС у мышей привел к повышению экспрессии генов транспортеров глутамата *Vglut1* и *Vglut2* в гиппокампе [59], а *Slc17a6* и *Slc17a8* (другие гены транспортеров глутамата) увеличили и снизили экспрессию, соответственно, у молодых мышей подвергнутых ХНС [60]. Субъединицы рецептора $ГАМК_А$ также меняют свою экспрессию в результате воздействия ХНС. *Gabra2* снижает свою экспрессию в миндалевидном теле мыши после 7-недельного ХНС, тогда как воздействие флуоксетина восстанавливает его экспрессию [57], *Gabra4* также снижает свою экспрессию в гиппокампе мышей после 3-недельного ХНС [61].

Некоторые исследования также отмечают, что ХНС оказало воздействие на гены связанные с факторами роста, например, *Bdnf* в ядрах шва [62], *Igf-2* [63], а также гены вовлеченные в процесс передачи информации между нейронами *Ffg*, *Ngf*, *Vegf* и *Egf* [64] и *Igf-1* в миндалине [57].

Экспрессия генов, связанных с кальциевой передачей информации (сигнализацией) также нарушается в результате ХНС. Экспрессия *Crebbp*, регулятора транскрипционных ответов на кальций в цитоплазме, была снижена в гиппокампе мыши после 3-недельного ХНС, а также была нарушена экспрессия *Cacnb1*, *Cacn2ad1* и кальций-транспортных АТФаз [61]. В 7-недельном ХНС была снижена экспрессия *Cacnb2* в миндалевидном теле и *Cacn1a1* в зубчатой извилине, при этом эффект был обратим в результате действия флуоксетина [57]. Также экспрессия *Creb3l3* была повышена у мышей в ХНС [60]. В целом, суммируя современные данные, можно сказать, что эффекты на экспрессию генов в мозге сильно зависят от выбранной линии животных и

модели стресса, а существующие данные – зачастую весьма трудновоспроизводимы между исследованиями.

Поведенческие эффекты хронического стресса

Одним из наиболее выраженных эффектов ХНС является развитие тревого-подобного фенотипа. У грызунов данный фенотип может быть определен в широком спектре тестов, включая тест открытого поля, приподнятый крестообразный лабиринт и темно-светлую камеру [26, 65-67]. В данных тестах на стресс новизны грызуны, подвергнутые ХНС, демонстрируют характерное снижение исследовательской активности (выраженный тигмотаксис, сниженную подвижность, предпочтение темных мест), которая связана также с тревожностью и увеличенной эмоциональной реактивностью [31, 68, 69].

Патологическим изменениям в результате хронического стресса также подвергается социальное поведение животных и человека. Так, нарушенное социальное поведение является хорошо изученной чертой пациентов с различными психическими расстройствами, вызванных стрессом [70, 71]. Поэтому, многие исследования сконцентрированы на исследовании механизмов взаимодействия социального поведения и стресса [72-74]. Исследования ХНС на грызунах подтвердили наличие связи между хронической стрессорной патологией и патологиями социального поведения [32, 75]. Более того, было определено, что социальная изоляция и другие нарушения естественного состояния социальной активности сами по себе являются сильными стрессорами, что говорит о наличии выраженной двунаправленной связи между стрессом и социальным поведением. В тоже время, грызуны обладают сложным социальным поведением и его точное определение, и оценка остается трудной задачей.

Поведение «отчаяния»

Представляя собою основное проявление как клинической, так и экспериментальной (животной) депрессии, поведение «отчаяния» моделируется в различных парадигмах, тесно связанных с моделями «выученной беспомощности», в которых животные подвергаются не

избегаемым стрессорам [26, 76-78]. Основываясь на данной парадигме, традиционные тесты на поведение «отчаяния» грызунов, такие как тест вынужденного плавания Порсолта (ТПП) [79-81] и тест подвешивания за хвост Стеру (ТПХ) [82-84], долгое время использовались в качестве тестов для определения антидепрессантной активности [85, 86]. Несмотря на наличие концептуальных и практических ограничений данного типа тестов [87-89], они позволяют быстро определять препараты с антидепрессантным эффектом [90] и по этой причине широко используются для их поиска и определения психофармакологического профиля препаратов ЦНС [23, 91, 92]. Наиболее важно то, что они предоставляют возможность разделить препараты противотревожного и антидепрессантного спектра, эффекты которых часто могут перекрываться в других тестах, например тесте открытого поля, в связи с тем, что многие антидепрессанты оказывают также и выраженное противотревожное воздействие [93, 94].

В ТПП животное помещается в цилиндрический сосуд, наполненный водой, в котором оно совершает активные попытки выбраться, чередующиеся с эпизодами неподвижности (которые связывают с феноменом «отчаяния») [79, 95]. Традиционные антидепрессанты моноаминергического спектра обычно приводят к снижению неподвижности и стимулируют активность, направленную на активное избегание стрессорных воздействий в данном тесте [96-98]. За последние годы тест вынужденного плавания Порсолта был значительно оптимизирован, включая процедуры манипуляций с животными, уровень воды и способ оценки поведения (например временные интервалы, неподвижность, попытки забраться по стенке) [97, 99, 100]. Тест особенно чувствителен к эффектам селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, трициклическим антидепрессантам, ингибиторам моноаминооксидазы и некоторым препаратам катехоламинергического спектра [79, 97, 101].

ТПХ является еще одним, концептуально схожим (но менее физически сложным) тестом для изучения поведения «отчаяния» и поиска новых препаратов антидепрессантного спектра [102]. В данном тесте грызуны подвешиваются в воздухе за хвост и, в такой позиции, совершают

активные колебательные движения, изгибания тела и подергивания, направленные на попытку избегания и, как и в случае с ТПП, эти эпизоды активности прерываются эпизодами неподвижности, которые связывают с поведением «отчаяния» [102]. Несмотря на концептуальную схожесть, ТПХ менее зависим от моторной активности, является менее затратным по времени, а также не вызывает гипотермии у животного в результате воздействия водой [103]. Хотя данные тесты отличаются по базовой активности разных линий животных в тесте (одни линии активнее в одном тесте, другие в другом), а также чувствительности к некоторым фармакологическим препаратам [103], оба теста чувствительны к действию антидепрессантов, некоторых психостимуляторов [103], генетическим манипуляциям, острым и хроническим стрессовым воздействиям [25, 26, 104-106] и при этом не чувствительны к воздействию противотревожных препаратов без антидепрессантного эффекта (например бензодиазепинов) [79, 103]. Несмотря на несомненную ценность использования тестов на поведение «отчаяния» в трансляционной биологической психиатрии [107, 108], их использование снижается в связи с высокой ценой преклинических исследований, а также растущими этическими требованиями к исследованию стресса на животных [109-113].

Будучи широко используемыми в качестве тестов для определения антидепрессантной активности веществ [86, 105], данные тесты также нашли применение в качестве инструментов для оценки тревогоподобного поведения и поведения связанного с аффективной патологией в моделях хронического стресса. Многие исследования, использующие модель ХНС или схожие модели, показали, что хронический стресс вызывает увеличение времени неподвижности и снижение латентного периода до первого эпизода неподвижности в ТПП [114-117] и ТПХ [118, 119]. Важно также отметить, что эти эффекты снимались или даже имели обратную направленность после воздействия антидепрессантами, но не противотревожными препаратами [117, 120]. Таким образом, данные поведенческие изменения, как считается, могут быть связанны с депрессо-подобным поведением животного. В тоже время, важно обратить внимание на то, что

в некоторых исследованиях воспроизвести эффекты ХНС на поведение «отчаяния» не удается [121, 122], что затрудняет прямые выводы о связи стресса и поведения «отчаяния».

Danio rerio

Несмотря на доказанную эффективность моделей грызунов в воспроизведении многих поведенческих, молекулярных и физиологических симптомов аффективных расстройств, данные модели имеют существенные недостатки, среди которых наиболее выраженным является практическая сложность постановки экспериментов, требовательных к рабочей силе, пространству, экономическим вложениям, а также времени и зачастую оказывающихся трудновоспроизводимыми и тяжело транслируемыми в клинические условия [28, 123]. В связи с данными трудностями, все большую популярность набирает использование *Danio rerio* (*zebrafish*, в некоторых русских источниках также *зебраданио [124, 125]*) в качестве модельного объекта в нейробиологических, генетических, фармакологических и других трансляционных биомедицинских исследованиях [126-128]. Такой рост популярности модельного организма в данных областях связан с несколькими ключевыми преимуществами относительно других классических организмов, в частности грызунов. Например, такими как относительная дешевизна использования, простота фармакологических, генетических и поведенческих манипуляций, небольшой размер, быстрое размножение и прозрачность эмбрионов [129]. Данные качества организма уже давно широко признаны и другими исследовательскими областями, такими как эмбриология [130, 131], генетика [132, 133] и онкология [134-136]. Трансляционная польза *Danio rerio* также обеспечивается высокой генетической гомологией по отношению к людям [137, 138], а также наличием эволюционно-консервативных основных нейротрасмиттерных систем [139, 140] и высоким, легко транслируемым сходством анатомических и гистологических структур ЦНС [141, 142].

В последние годы использование *Danio rerio* как модельного объекта было расширено до исследования эффектов стресса на организм [128, 143-145]. Стрессорные модели и тесты на

Danio rerio стремительно набирают популярность в связи с низкой стоимостью, простотой манипуляций и сниженной этической нагрузкой, в связи с использованием более простого, с нейробиологической точки зрения, организма [146-149]. В дополнение к основным преимуществам использования *Danio rerio*, их стресс-реакции являются высококонсервативными по отношению к другим позвоночным [150]. Более того, существование у *Danio rerio* кортизола как основного глюкокортикоида [151], в отличие от грызунов, у которых таковым является кортикостерон, делает эту модель особенно подходящей для проведения трансляционных исследований молекулярных механизмов патологических состояний, вызванных стрессом у человека. Исходя из данных фактов, а также высокого потенциала организма для высокопроизводительного поиска потенциальных лекарственных средств [152, 153], модель ХНС была успешно адаптирована для использования на *Danio rerio* [154-158].

В связи с выраженной сохранностью поведенческих паттернов между разными видами позвоночных, многие хорошо изученные поведенческие эффекты ХНС наблюдаются как у грызунов, так и у *Danio rerio* [159-161]. Аналогично грызунам, у *Danio rerio* для оценки тревожности используются тесты на предъявление новизны, например тест незнакомого аквариума (ТНА) [143, 160, 162]. Было показано, что *Danio rerio,* подвергнутые ХНС, показывают снижение исследовательской активности в поведенческих тестах [157, 158, 163, 164]. Так как аналогичные поведенческие отклонения наблюдаются при воздействии на *Danio rerio* другими стрессорами, в том числе фармакологическими препаратами с протревожным (анксиогенным) эффектом [165, 166], а также обратимости данных изменений противотревожными (анксиолитическими) препаратами и антидепрессантами [162, 167, 168], снижение исследовательской активности *Danio rerio* в тестах на предъявление новизны считается признаком тревожного поведения, тогда как повышение активности – противотревожным эффектом. Среди других успешно адаптированных тестов, ставящих своей задачей измерение уровня тревожности животного, является тест темно-светлого аквариума (ТСА) [169]. Данный

тест основан на естественном избегании *Danio rerio* освещенных участков (аналогично грызунам) и, как было показано, ХНС [164], а также протревожные препараты [170], усиливают предпочтение темных участков в данном тесте.

Danio rerio также являются высоко социальным организмом с относительно простой нервной системой, что выражается в наличии простых и легко определяемых поведенческих социальных параметров, основанных на тенденции данного модельного организма к построению косяков (стайное поведение) [171]. Данное поведение также тесно связано с процессом добычи пищи, избеганием хищников и реакцией страха [172]. Оценка таких параметров как наличие косяка, расстояние между рыбами в косяке и число рыб в косяке являются полезными инструментами для изучения социального поведения *Danio rerio*. В тоже время, эффекты ХНС на поведение, связанное с построением косяка, отличаются в разных исследованиях [158, 161, 164] и, возможно, связаны с длительностью применения протокола. Таким образом, эффекты ХНС на социальное поведение *Danio rerio* остаются слабо изученными. Одним из перспективных механизмов для изучения эффектов ХНС на социальное поведение может являться изучение данного фенотипа в динамике моделирования, для получения более подробной картины его трансформации в процессе развития патологии.

Современные поведенческие тесты на *Danio rerio* обычно используют избегаемые стрессоры для оценки их поведения. Например, наиболее распространенные тесты – тест незнакомого аквариума и тест темно-светлого аквариума, оба используют концепт новизны, изучая избегание животным потенциально опасных, незнакомых мест – верхней или осветленной части аквариума, соответственно [173-175]. Таким образом, тест, который бы изучал поведенческую реакцию на стрессор, который является не избегаемым (подобно парадигмам связанными с «выученной беспомощностью» и «отчаянием» у грызунов), мог бы помочь исследовать изменения в поведении, которые напрямую не связаны с классическими тестами, основанными на новизне [176-180]. Так, например полная иммобилизация или ограничение

подвижности вызывают сильный не избегаемый стресс у *Danio rerio* и грызунов [158, 181, 182]. Однако, использование таких стрессоров ограниченно выраженной природой физического воздействия (накладывая этические ограничения использования стрессора) и трудностями оценки поведения полностью обездвиженного животного непосредственно вовремя воздействия стрессором. Несмотря на растущий интерес к исследованию психоактивных препаратов на *Danio rerio* [128, 183-186], до данной работы не было разработано теста, подобному тесту на определение поведения «отчаяния» у грызунов, что затрудняло определение препаратов антидепрессантного спектра у данного вида.

Учитывая растущий интерес к использованию *Danio rerio* в контексте трансляционных исследований заболеваний ЦНС [128, 161, 187], а также исследованию эффектов психоактивных препаратов, в том числе антидепрессантов [183, 185, 186, 188-190], **Глава 1** данной работы посвящена разработке нового теста для определения поведения «отчаяния» у *Danio rerio* [191], названного тестом иммобилизации хвоста *Danio rerio*. Тест был апробирован на нескольких антидепрессантных препаратах, противотревожном препарате и острых стрессорных воздействиях, а также проверена воспроизводимость теста в экспериментальных условиях. Изучены нейрохимические изменения, возникающие в мозге *Danio rerio* в ответ на тестирование, а также механизмы, ответственные за увеличение или уменьшение активности в тесте. Рассмотрена концептуальная взаимосвязь между предложенным тестом и тестами грызунов и намечены дальнейшие точки для изучения фундаментальных основ данного фенотипа. Этот тест, являясь аналогом теста грызунов, может быть также по аналогии использован для изучения влияния ХНС на поведение «отчаяния».

В **Главе 2** настоящей диссертационной работы были использованы два метода для решения проблемы вариации результатов в области трансляционных исследований психических расстройств [192]. Во-первых, эффекты ХНС на поведение, уровни моноаминов и их метаболитов изучались в динамике, исследуя показатели каждую неделю. Данный подход

позволяет изучить динамику патогенеза, наблюдая за несколькими временными срезами, тем самым частично решая проблему вариабельности, наблюдаемую в исследованиях грызунов. Во-вторых, в работе для исследования был выбран *Danio rerio*, как модельный организм с относительно простой нервной системой, узким поведенческим репертуаром и эволюционно отдаленный от человека, но одновременно позвоночный организм, обладающий теми же структурами ЦНС, что и у человека и грызунов [141, 142, 161]. Использование *Danio rerio* в данной работе может быть эффективным для детального исследования сложных изменений транскриптома, наблюдаемых в исследованиях на грызунах, предоставляя эволюционную перспективу и позволяя определить наиболее эволюционно консервативные эффекты хронического стресса на генную экспрессию у позвоночных животных.

Глава 3 диссертационной работы посвящена трансляции транскриптомных данных, полученных в Главе 2, в целях выявления эволюционно-консервативных черт патогенеза у позвоночных животных [193]. На данный момент, данные множества животных моделей остаются трудно воспроизводимыми на людях, что приводит к необходимости разработки новых методов экспериментального транслирования результатов на клинические данные. Глава 3 ставит своей задачей определить ключевые черты, ответственные за патогенез аффективных расстройств, используя важный для нейробиологии подход межвидовых исследований [194, 195]. В данной главе выполнен анализ межвидовых данных транскриптома мозга *Danio rerio*, крыс и человека, для определения новых общих молекулярных мишеней и биомаркеров, ответственных за патогенез стресс-индуцированных расстройств. Использование трех важных модельных организмов одновременно, выявляя межвидовые закономерности патогенеза, может являться эффективным подходом для изучения таких комплексных гетерогенных заболеваний как аффективные расстройства.

Исходя из выше сказанного, **научной целью диссертационной работы было исследование стресс-индуцированного аффективного патогенеза у *Danio rerio* и проведение трансляционного анализа межвидовых паттернов экспрессии генов мозга при аффективном патогенезе у человека, крыс и *Danio rerio*.**

Для решения данной цели были поставлены следующие конкретные научные **задачи**:

1. Разработать и валидировать фармакологически, поведенчески и нейрохимически тест на поведение «отчаяния» у *Danio rerio* (Глава 1).

2. Оценить в еженедельной динамике нейрохимический и поведенческий фенотип, вызываемый моделью хронического непредсказуемого стресса у *Danio rerio,* и охарактеризовать основные эффекты воздействия антидепрессантов в модели, в качестве фармакологической валидации (Глава 2).

3. Определить отклонения в экспрессии генов мозга *Danio rerio*, вызванные моделью хронического непредсказуемого стресса, и оценить потенциал коррекции данного фенотипа препаратами-антидепрессантами (Глава 2).

4. Предложить новые методы межвидовой трансляции данных транскриптома и определить потенциал их использования (Глава 3).

5. Определить общие отклонения экспрессии генов мозга, возникающие у *Danio rerio* и крыс, подвергнутых модели хронического непредсказуемого стресса, а также людей с Большим Депрессивным Расстройством (БДР) (Глава 3).

Основные положения, выносимые на защиту:

1) Предложенный тест подвешивания за хвост *Danio rerio*, в соответствии с его психофармакологическим профилем, может являться аналогом тестов на поведение «отчаяния»

у грызунов, обладая выраженной чувствительностью к антидепрессантным и острым стрессорным, но не фармакологическим противотревожным воздействиям. Данное поведение тесно связано с серотонергической и дофаминергической функцией.

2) Хронический непредсказуемый стресс *Danio rerio* приводит к развитию стойкого тревогоподобного фенотипа, тогда как остальные поведенческие оси обладают более сложной временной динамикой. Нейрохимический профиль в модели тесно связан с серотонергической передачей. Утверждается наличие высокой вариабельности поведения и нейрохимических данных в зависимости от продолжительности протокола хронического стресса.

3) Хронический стресс вызывает специфические нарушение транскриптома мозга *Danio rerio*, приводя к дифференциальной экспрессии 196 генов и обогащению 97 наборов генов. При этом, воздействие антидепрессантом флуоксетином успешно корректирует экспрессию большей части из этих генов и наборов генов. Среди дифференциально экспрессируемых между группами генов, *tpm4b, mov10b.1, isg15,* stat*1b* можно выделить как важные молекулярные мишени для дальнейших исследований.

4) Традиционные методы прямого межвидового сравнения данных транскриптома являются малоэффективными для определения общих генов, участвующих в патогенезе стресс-индуцированных расстройств. Для увеличения чувствительности предложено использование мета-аналитического сравнения данных анализа дифференциальной экспрессии генов или обогащения клик в сети протеин-протеин взаимодействий каждого вида в отдельности, используя гены-ортологи, общие между данными видами.

5) Экспрессия генов-ортологов *GRIA1, DLG1, CDH1, THRB, PLCG2, NGEF, IKZF1, FEZF2* в материале мозга обладает наибольшей степенью консервативности между *Danio rerio* и крысами, подвергнутыми модели хронического непредсказуемого стресса, и людьми с Большим Депрессивным Расстройством. Предложенный набор из 253 генов может быть использован для

изучения аффективной патологии у позвоночных животных в эволюционно-консервативном контексте.

По материалам диссертации опубликовано 11 научных статей в международных журналах, индексируемых системами WoS и/или Scopus. Диссертационная работа была доложена и апробирована на международных и российских научных конференциях – 26-ой, 27-ой и 28-ой Международной Мультидисциплинарной Конференции «Стресс и поведение» (Санкт-Петербург, май 2019-2021 гг.), 3-ей и 5-ой Ежегодной Конференции Института Трансляционной Биомедицины СПбГУ (ИТБМ СПбГУ) «Актуальные проблемы трансляционной биомедицины» (Санкт-Петербург, июнь 2017 г. и июль 2019 г.), 11-ой Международной Региональной (Северная Америка) Конференции «Стресс и поведение» (Майами, США, июль 2017 г.), 15ой Международной Региональной (Азия) Конференции «Стресс и поведение (Ямагучи, Япония, сентябрь 2018 г.), Всероссийской молодежной конференции с международным участием «Алмазовские чтения – 2018» (Санкт-Петербург, май 2018 г.).

В цикле работ, составляющих диссертацию, представленную к защите, автор принимал непосредственное участие на всех этапах их выполнения, включая постановку и проведение экспериментов, разработку протоколов, статистического и биоинформатического анализа, обсуждения и публикации полученных результатов, а также осуществлял координацию проектов. Автор самостоятельно, в консультациях с научным руководителем, определял цели и задачи исследований, разрабатывал экспериментальные подходы, интерпретировал данные и привлекал частичное финансирование для выполнения проекта. Диссертационная работа выполнялась при поддержке средств Санкт-Петербургского Государственного Университета, грантов РФФИ и РНФ, стипендии Ректора СПбГУ, стипендии Президента Российской Федерации, а также Государственного задания СПбГУ. Работа проводилась в том числе с использованием Ресурсного центра “Развитие Молекулярных и Клеточных Технологий” СПбГУ.

Глава 1 Разработка теста на определение поведения «отчаяния» у *Danio rerio*

1.1 Методы, животные и оборудование

Животные и их содержание

Взрослые (4-6 месяцев) короткохвостые *Danio rerio* дикого типа (соотношение полов 1:1) были приобретены у местного поставщика (Аксолотль, Санкт-Петербург, Россия) и содержались в системе ZebTec Active Blue Stands с Water Treatment Unit (Tecniplast, West Chester, USA) в помещении для содержания водных животных Национального Медицинского Исследовательского Центра им. В. А. Алмазова (Санкт-Петербург, Россия) в группах по 10 рыб в 4-литровых пластиковых аквариумах, заполненных фильтрованной водой температуры 27±0,5°C и pH 7,4. Освещение (950–960 люкс) в помещении содержания и комнатах для поведенческого тестирования обеспечивалось 18-Вт флуоресцентными лампами с 12/12 циклом дня/ночи, в соответствии со стандартами ухода за *Danio rerio* [196]. Все использованные рыбы были экспериментально наивными и кормились дважды в день гранулами Neon Micro Granules для рыб размером 1-2 см (Dajana Pet, Bohuňovice, Czech Republic), в соответствии с нормами питания *Danio rerio* [197].

Рыбы, использованные во всех экспериментах, принадлежали к одной популяции и были распределены по группам случайным образом, используя генератор случайных чисел (https://www.random.org/). Животные акклиматизировались к новым условиям не менее двух недель перед началом экспериментальных процедур. Все поведенческие и нейрохимические исследования производились на разных рыбах, во избежание эффекта повторного тестирования (т.е. рыбы были экспериментально наивны во всех экспериментах). Все эксперименты были проведены как запланировано и все данные были изучены, без исключений образцов.

Тест подвешивания за хвост Danio rerio (ТПХ)

Поведенческие тестирования проводились с 11:00 до 17:00, используя контейнеры с водой комнатной температуры (27 ^{o}C). Перед тестированием, рыбы были индивидуально подвергнуты

различным воздействиям, включая электрический ток (Эксперимент 1), феромон тревоги (Эксперимент 2), селективный ингибитор обратного захвата серотонина (СИОЗС) - сертралин (Эксперимент 3), трициклический антидепрессант - амитриптилин (Эксперимент 4) или противотревожный препарата бензодиазипенового типа - феназепам (Эксперимент 5).

Экспериментальное устройство теста подвешивания за хвост *Danio rerio* (ТПХ) представлено на Рис. 1. Каудальная половина рыбы была обездвижена на 5 минут в влажной губке из вискозы (8 длины х 4 высоты х 5 ширины, см), разрезанной посередине острым лезвием на глубину 2 см снизу и прикреплена к стенкам пластикового стаканчика (см. далее) используя дополнительны 2 см разрезы по бокам. Краниальная половина рыбы при этом находилась в свободном состоянии в стаканчике (7х5,5-4,8 обрезанный конус), заполненном водой (Рис. 1). Задние и боковые части стенки стаканчика были заклеены белой непрозрачной пленкой для улучшения контрастности рыбы на фоне стаканчика во время видеозаписи поведения.

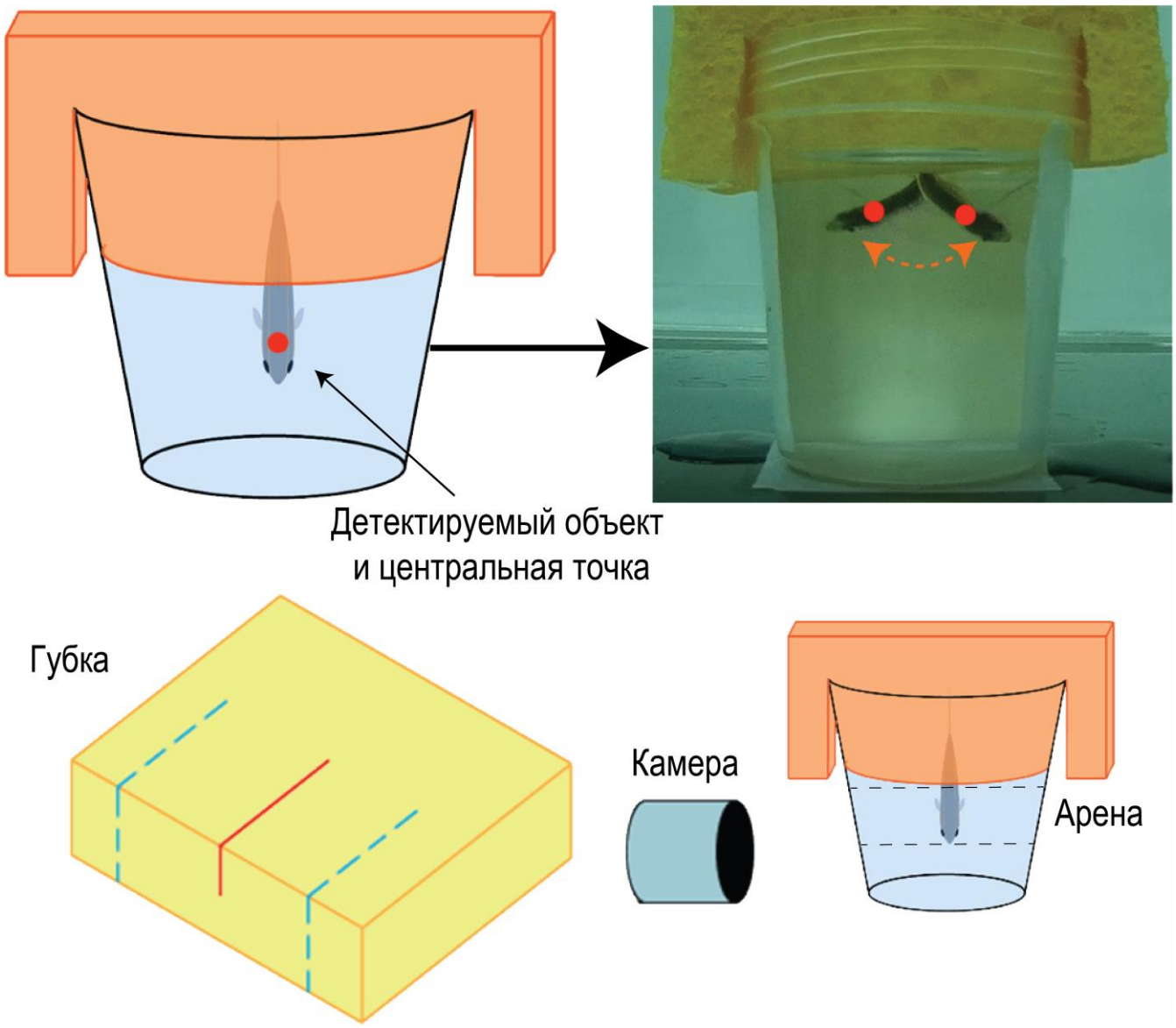

Рис. 1. Схематическая диаграмма, показывающая экспериментальные условия теста подвешивания за хвост (ТПХ), с типичным поведением в форме перемещения из стороны в сторону взрослых *Danio rerio* [191]. Красные точки представляют собой центральную точку тела, детектируемую программой Noldus Ethovision XT11.5 на основе видимой части рыбы (не скрытой за губкой). На нижней части рисунка представлены 2 см разрезы, произведенные на губке в использованном тесте, для крепления хвоста (центральная часть) и крепления губки к контейнеру (голубые латеральные надрезы). Также представлен процесс съемки ТПХ, включая камеру, а также зону, использованную в качестве «арены» в Noldus Ethovision XT11.5 внутри которой фиксировалось поведение. Типичное наблюдаемое поведение и пример экспериментального видео также доступны по ссылкам Youtube (youtu.be/8kR3-ix8hUw) и на сайте International Stress and Behavior Society (ISBS; www.stressandbehavior.com/zti).

В Эксперименте 1 рыбы (n=15 на группу) помещались в аквариум объемом 1 л (10 х 10 х 10 см) и подвергались воздействию низковольтного электрического стимула в течение 10 сек, а затем сразу помещались в тест подвешивания за хвост *Danio rerio* для дальнейшего тестирования. Электрический ток был создан, используя 6 В низковольтный трансформатор, присоединенный к двум пластинам из нержавеющей стали (10 х 10 см), прикрепленным к внутренним стенкам аквариума, с результирующим переменным током 0,1 В на см воды, аналогично другим работам, использующим воздействие электрического тока на рыбах, в том числе моделям активного избегания [198]. Электрический ток был выбран в качестве широко известного стрессорного, избегаемого фактора для *Danio rerio* [198, 199].

В эксперименте 2 рыбы (n=15) помещались в пластиковый контейнер объемом 20 мл и подвергались воздействию 1 мл феромона тревоги. Феромон тревоги также был выбран как оказывающий высоко стрессорное и избегаемое воздействие на *Danio rerio* [143]. Для извлечения феромона тревоги несколько рыб, не участвующих в эксперименте, были эвтаназированы в ледяной воде, затем им были нанесены 10-15 порезов на коже, с каждой стороны тела при помощи острого лезвия, а тела обмыты 10 мл дистиллированной ледяной воды, полученный раствор отфильтрован (в соответствии с [143]).

В экспериментах 3-5 рыбы подвергались воздействию веществ в 500 мл пластиковых контейнерах в течение 20 минут, аналогично [183, 185, 186], при помощи погружения в 1% раствор диметил сульфоксида (DMSO), содержащего 2, 10 или 15 мг/л сертралина (Эксперимент 3, n = 15 в каждой группе), 1, 1,5 и 2 мг/л амитриптилина (Эксперимент 4, n = 15 в группе) или 0,1, 0,5 и 1 мг/л феназепама (Эксперимент 5, n = 10 в группе), соответственно. DMSO (Татхимфармпрепараты, Казань, Россия) был использован как органический растворитель (необходимый для растворения нерастворимых в воде веществ), широко используемый в поведенческих исследованиях на *Danio rerio* и не оказывающий психоактивного эффекта в данной дозировке [200, 201]. Сертралин, амитриптилин и феназепам были произведены Pfizer,

Inc. (New York, USA), Алси Фарма (Киров, Россия) и Производство Медикаментов (Аксай, Россия), соответственно. Концентрации были подобраны в соответствии с собственными пилотными поведенческими экспериментами и другими исследованиями, посвященным исследованию эффектов антидепрессантов [183, 185, 202] и феназепама [203] на *Danio rerio*.

Сертралин и амитриптилин были выбраны для фармакологической валидации теста подвешивания за хвост *Danio rerio*, как два хорошо изученных и широко используемых антидепрессанта с выраженными эффектами в клинических исследованиях [204, 205], а также обладающих антидепрессантным воздействием в тестах на поведение «отчаяния» грызунов [103, 206, 207]. Данные препараты были раннее изучены на стрессорных моделях *Danio rerio* и показали высокую способность воздействовать на их ЦНС [183, 185, 202]. Выбор данных препаратов также был связан с тем, что они относятся к различным типам антидепрессантов, с расчетом на возможность обобщения результатов исследования на широкий спектр антидепрессантов при наличии чувствительности к обоим препаратам.

Феназепам был для исследования потому что является типичным бензодиазепеном с противотревожным эффектом в клинических исследованиях [208, 209], а также потому что бензодиазипены вызывают противотревожный эффект у грызунов [210-213], но не оказывают антидепрессантного эффекта при остром воздействии в тестах на поведение «отчаяния» у грызунов [79, 103]. Контрольная группа *Danio rerio* помещалась в тест без воздействия стресса, т.е. непосредственно после извлечения из домашних аквариумов (Эксперименты 1-2) или после 20 минутного нахождения в контейнере объемом 500 мл, не содержащего психоактивных веществ (но содержащего 1% раствор DMSO, Эксперименты 3-5). Более того, для исследования эффекта DMSO на поведение в данном тесте, в Эксперименте 3 была также протестирована группа, не подвергавшаяся воздействию раствора DMSO (n=15), сравнивая группу, получившую воздействие раствора и группу, державшуюся в воде без DMSO. В данном исследовании не было

найдено отличий между группами (см. далее), что подтверждает отсутствие воздействия 1% DMSO на поведение в тесте подвешивания за хвост *Danio rerio*.

Так как половые отличия играют важную роль в поведенческих и фармакологических исследованиях на людях [214, 215], грызунах [216, 217] и *Danio rerio* [218, 219], Эксперимент 6 был посвящен исследованию потенциальных половых различий в тесте подвешивания за хвост *Danio rerio*, используя рыб обоих полов, не подвергнутых каким либо стрессорным и фармакологическим воздействиям, по протоколу аналогичному Экспериментам 1-2 (n=15 для каждого пола). Определение пола происходило при помощи визуального осмотра двумя экспериментаторами, а также было подтверждено методом экстракции гонад, аналогично [220].

Растущее число свидетельств говорит о важности меж- и внутри-лабораторной воспроизводимости данных как в исследованиях на грызунах [221, 222], так и на *Danio rerio* [223]. Например, в исследованиях на грызунах было показано, что различные экспериментаторы могут получать различные результаты при тестировании [224-226]. Для анализа данного эффекта два различных экспериментатора – атлетичный высокий мужчина и небольшая девушка (оба возраста 21 год) параллельно, используя одну экспериментальную комнату и одну когорту рыб, производили тестирование в тесте подвешивания за хвост *Danio rerio*, каждый тестируя 15 рыб, без дополнительных воздействий, по аналогии с Экспериментами 1-2 и 6.

Все поведенческие эксперименты производились между 11:00 и 17:00 часами в целях нивелирования эффектов времени тестирования и порядка тестирования, для этих же целей съемки экспериментальных и контрольной групп велись параллельно в одно и тоже время. Все тесты были записаны на видео с использованием экшн-камеры SJCAM SJ4000 (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) на скорости 60 кадров/сек. Каждое видео из Эксперимента 1-2 было затем обработано вручную для оценки длительности (сек) и числа активных попыток избегания, длительностью более 2 сек. Попытки избегания определялись как продолжительные сократительные движения тела, разделенные эпизодами неподвижности – полной

неподвижности тела, за исключением движений жабр и глаз. Программа Noldus IT (Wageningen, Netherlands) EthoVision XT11.5 [227] была использована в Экспериментах 1-2 для исследования корреляций между параметрами, обработанными вручную и поведенческих данных, сгенерированных программным способом (см. также Статистический анализ и работа с данными). После подтверждения эффективности и воспроизводимости поведенческих результатов между ручной и автоматической обработкой (см. Результаты), все поведенческие эксперименты были проанализированы программным методом, для того, чтобы избежать влияния человеческого фактора и убедиться в непредвзятости сбора данных и их анализа.

Программа Ethovision XT11.5 в данных экспериментах автоматически определяла несколько различных, однако концептуально схожих параметров, которые по-разному отражали подвижность в тесте подвешивания за хвост *Danio rerio*. Поведенческие параметры, проанализированные в данной работе: пройденная дистанция (см), определялась как полная дистанция, которую преодолела центральная точка определенного животного, за весь эксперимент (под центральной точкой понимается центр наблюдаемой, свободно движущейся части рыбы, не закрытой губкой, определенной программой автоматически, Рис. 1); активность (средний % измененных пикселей) определялась как среднее число пикселей, измененных между двумя последовательными кадрами, относительно размеров арены в пикселях (ареной являлась обрабатываемая часть видеозаписи, состоящая из верхней половины пластикового контейнера); время проведенное в активном состоянии (время активности, сек) определялось как длительность времени, когда животное было активным, на основе анализа изменения пикселей (активность, %). Мобильность в программе Ethovision XT11.5 является дискретной величиной (параметр состояния), анализирующейся на основании степени изменения взаимного расположения пикселей, определяющих объект (в отличии от активности, при которой измеряется изменение пикселей на всей арене). В данной работе мобильность оценивалась как среднее число изменившихся пикселей между последовательными кадрами с минимальным порогом в 20%.

Соответственно, время мобильности (сек) оценивалось как время, которое организм провел в состоянии мобильности – изменения как минимум 20% пикселей объекта между кадрами. Видео, на котором отражено типичное поведение в тесте подвешивания за хвост *Danio rerio*, можно найти по следующим ссылкам - youtu.be/8kR3-ix8hUw и www.stressandbehavior.com/zti.

Тест незнакомого аквариума

Для изучения потенциальных поведенческих изменений, вызванных тестом подвешивания за хвост *Danio rerio*, в Эксперименте 8 исследовалось поведение рыб в тесте незнакомого аквариума сразу после воздействия тестом подвешивания за хвост. В данном эксперименте рыбы помещались в тест подвешивания за хвост *Danio rerio* на 5 минут, тогда как контрольная группа помещалась в контейнер, аналогичный используемому в тесте, без прикрепления в губку, для учета эффекта кратковременного социального изолирования. Тест незнакомого аквариума был выбран в данной работе для изучения поведенческих последствий воздействия тестом подвешивания за хвост, как один из наиболее распространенных, высоко чувствительный тест, основанный на изучении новизны и используемый для оценки поведения, связанного со стрессом и моторных эффектов [145, 173, 175]. Затем рыбы были протестированы в тесте незнакомого аквариума, аналогично [176] (см. также Главу 2), для изучения поведения связанного с тревогой и локомоторной активностью. Аквариум для теста незнакомого аквариума представлял собой прямоугольный аквариум (20 высота x 20 длина x 5 ширина см), заполненный водой на 19 см, условно разделенный на две равные горизонтальные части (верхняя и нижняя половины). Задняя и боковые стенки аквариума были заклеены непрозрачной белой пленкой для увеличения контрастности во время видеозаписи поведения, а также для снижения числа внешних визуальных стимулов.

Эксперименты были записаны с использованием экшн-камеры SJCAM SJ4000 для дальнейшего анализа. Были оценены такие параметры как пройденная дистанция (см), время проведенное в неподвижном состоянии (сек), число переходов в верхнюю половину (сек), время,

проведенное в верхней половине (сек), латентный период выхода наверх (сек), среднее расстояние до поверхности воды (см) и средний угол поворота (угол), с использованием программы Noldus EthoVision XT11.5 аналогично [228, 229]. Дополнительно, каждое видео оценивалось вручную на предмет наличия поведения, схожего с атаксией, с использованием двузначной шкалы (0 – отсутствие, 1 – присутствие), включая такие элементы как плавание на боку, в перевернутом положении или вертикально, в целях определения потенциальных неврологических отклонений.

Нейрохимический анализ

Моноамины играют важную роль в патогенезе стрессорных и аффективных расстройств ЦНС, как в клинических исследованиях [17, 230], так и в экспериментальных моделях грызунов [231, 232]. Для изучения изменений в моноаминергических систем в тесте подвешивания за хвост (ТПХ) *Danio rerio* были изучены концентрации норэпинефрина (NE), серотонина (5-HT), дофамина (DA) и их метаболитов 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-HIAA), 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты (DOPAC) и гомованиловой кислоты (HVA) в образцах целого мозга *Danio rerio* с использованием метода ВЭЖХ-ЭД аналогично [183, 185]. Так, в Эксперименте 9 были проанализированы нейрохимические изменения, вызванные нефармакологическими манипуляциями в двух когортах (n=15 в группе) – контрольных рыб, подвергнувшихся воздействию теста подвешивания за хвост и рыб, также подвергнутых воздействию электрического шока по аналогии с Экспериментом 1. Для подтверждения наблюдаемых изменений, индуцированных фармакологически в Экспериментах 10 и 11, рыбы были подвергнуты наиболее концентрациям сертралина (15 мг/л; n=10) и амитриптилина (1 мг/л, n=10 в группе), которые оказались наиболее психоактивными в тесте ТПХ, с использованием контрольных рыб, аналогичных Эксперименту 9.

Для исследования рыбы были эвтаназированы в ледяной воде непосредственно после воздействия тестом подвешивания за хвост и их мозг был извлечен на льду и криоконсервирован

в жидком азоте для дальнейших анализов. В день проведения ВЭЖК-ЭД образцы были взвешены и помещены в 10 мкл ледяной 0,1 М раствора хлорной кислоты (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) с 100 нг/мл 3,4-дигидроксибензиламина (DHBA, внутренний стандарт) на каждый 1 мг ткани мозга для сохранения нейрохимических аналитов. Затем образцы были сонифицированы (гомогенизированы посредством ультразвукового воздействия; соникатор Q125 (Qsonica, LLC, Newtown, CT, USA)) в течение 10 секунд на 50% мощности и очищены методом центрифугирования и фильтрованы с использованием центрифужного фильтра PVDF filter (Merck Millipore, Billerica, MA, USA). ВЭЖК-ЭД был выполнен с использованием CA-5ODS колонки на хроматографе HTEC-500 (Eicom, San Diego, CA, USA) углеродным электродом WE-3 G, с потенциалом +650-мВ. Мобильная фаза состояла из 0,1 М раствора хлорной кислоты (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) с 100 нг/мл 3,4-дигидроксибензиламина (DHBA, внутренний стандарт) на каждый 1 мг ткани мозга, для сохранения нейрохимических аналитов. Концентрации были нормализированы, используя индивидуальные концентрации DHBA в образцах и представлены в виде пкг/мг ткани мозга. Дополнительно, были определены отношения 5-HIAA к серотонину, DOPAC к дофамину и HVA к дофамину, отражающие уровень оборота моноаминов в мозге.

Статистический анализ и работа с данными

Так как в процессе планирования эксперимента нормальность данных не предполагалась, для статистического анализа были использованы непараметрические тесты. Так, U-тест Манна-Уитни (U-тест) был использован для попарных сравнений в экспериментах с использованием двух групп. Тест Краскела-Уоллиса (КУ-тест) с последующим пост-хок тестом Данна для попарных сравнений статистически значимых по КУ-тесту данных были использованы для анализа экспериментов с более чем двумя группами. Если не указано обратное, данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. Статистическая значимость установлена на значении $p<0,05$ во всех тестах. В поведенческих экспериментах, исследующих

более двух показателей, была использована поправка Бонферрони для учета множественных сравнений, с результирующими пороговыми значениями альфа в <0,008 (Эксперименты 1-2) и <0,007 (Эксперимент 8). Размер выборки был определен на основании прошлых опубликованных исследований, посвященных изучению стрессорных и антидепрессантных эффектов на *Danio rerio* и их нейрохимию, включая работы [183, 185, 186, 233] и на основании пилотных исследований [234, 235], а также на статистическом анализе мощности с использованием онлайн калькулятора (www.sample-size.net/sample-size-means/) на основании пилотных данных, с размером эффекта в 120 (на основании разницы в средних значениях пройденного расстояния в тесте подвешивания за хвост), 80% мощности эффекта, стандартного отклонения 80 (также основываясь на пилотных данных) и уровне статистической значимости <0,05. Все протестированные рыбы были включены в итоговые данные без исключений и все запланированные анализы представлены в данном исследовании.

1.2 Результаты

Воздействие электрическим током в Эксперименте 1 снизило показатели, изучаемые в тесте подвешивания за хвост *Danio rerio*, за исключением числа эпизодов активности (p>0,008, U-тест; Рис. 2 и Таблица 1). Воздействие феромоном тревоги в Эксперименте 2 вызвало схожие изменения, снизив дистанцию и % мобильности, но не оказав эффекта на другие поведенческие параметры (Рис. 2 и Таблица 1).

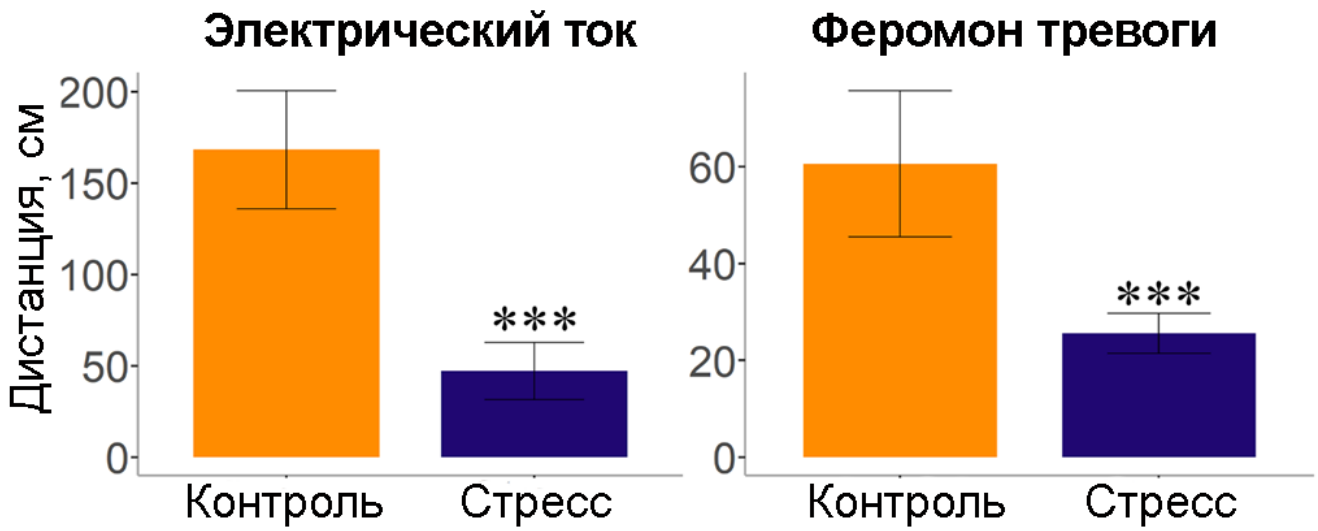

Рис. 2. Поведенческие эффекты двух стрессоров, короткого (10 сек.) Воздействия 0,1 В/см электрического тока (Эксперимент 1) или 1 мл феромона тревоги на поведение в 5-минутном ТПХ *[191]*. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. ***p<0,008 против контрольной группы, МВ-тест (n = 15; см. также Таблицу 1).

Для фармакологической валидации предложенного теста в Эксперименте 3 был использован СИОЗС сертралин, который оказал статистически значимый эффект в тесте, повысив пройденную дистанцию (КУ-тест, H=16,48, P=0,0009) в концентрациях 10 и 15 мг/л и время проведенное в мобильности в концентрации 15 мг/л (H =19,47, P =0,0002; Рис. 3 и Таблица 1). Кроме того, 1% раствор ДМСО без предъявления психоактивных веществ не оказал влияния на поведение *Danio rerio* в тесте (Таблица 1). В Эксперименте 4 был использован трициклический антидепрессант амитриптилин, воздействие которого привело к увеличению пройденной дистанции (КУ-тест, H=9,371, P=0,0247) и времени, проведенного в подвижном состоянии (H=10,72, P =0,0133) в концентрации 1 мг/л (Рис. 3 и Таблица 1). При этом, противотревожный препарат бензодиазепинового ряда феназепам (Эксперимент 5) не оказал воздействия на поведение *Danio rerio* во всех протестированных концентрациях (Рис. 3 и Таблица 1). Также не было обнаружено отличий между поведением рыб разного пола в тесте и не было обнаружено эффекта экспериментатора на результаты тестирования (Эксперименты 6-7; Таблица 1).

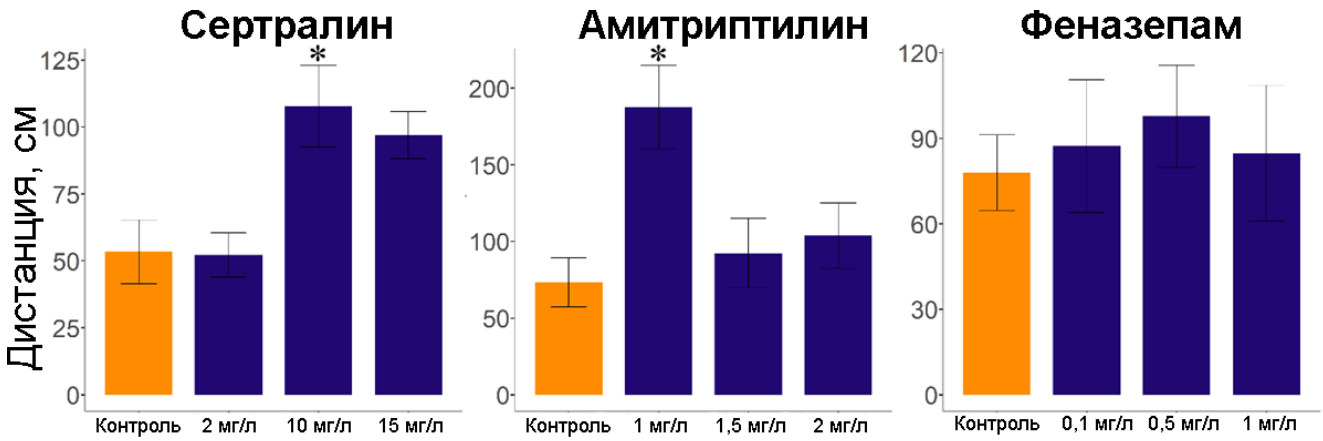

Рис. 3. Поведенческие эффекты 20 минутного воздействия сертралином, амитриптилином (n=15) и феназепамом (n=10) у *Danio rerio* в 5-минутном тесте подвешивания за хвост (Эксперименты 3-5) *[191]*. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. *p<0,05 против контрольной группы, пост-хок тест Данна для статистически значимых по КВ-тесту данных (см. также Таблицу 1).

В Эксперименте 8 рыбы подвергнутые тесту подвешивания за хвост *Danio rerio* перед тестированием в незнакомом аквариуме статистически значимо снизили пройденное расстояние и повысили время, проведенное в неподвижном состоянии, но не показали изменений в других параметрах, включая параметры, оценивающие тревожное поведение (Рис. 4, Таблица 2).Также в обеих группах не наблюдалось схожего с атаксией поведения (данные не представлены).

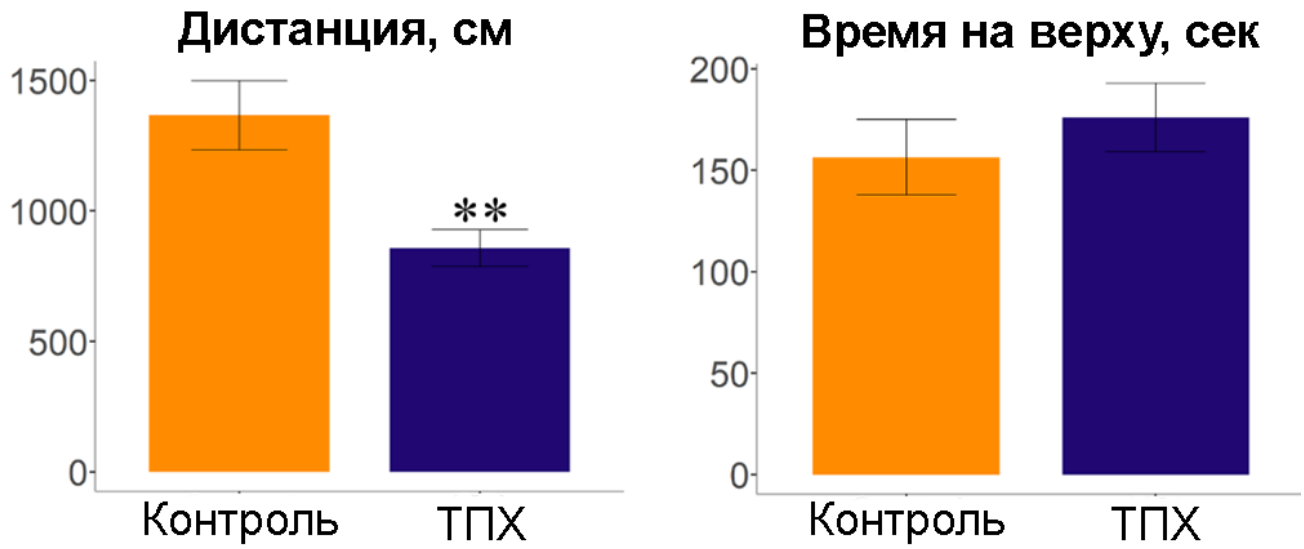

Рис. 4. Поведенческие эффекты 5-минутного теста ТПХ на поведение *Danio rerio* в тесте незнакомого аквариума (Эксперимент 8) *[191]*. **P<0,007 против контрольной группы, MB-тест (n = 15; см. также Таблицу 2).

Нейрохимический анализ, сравнивающий контрольную группу, группу, подвергавшуюся воздействию теста подвешивания за хвост *Danio rerio* и группу, получившую разряд электрического тока перед аналогичным тестированием (Эксперимент 9) показал увеличение отношения 5-HIAA к серотонину в обеих экспериментальных группах относительно контрольной группы (Рис. 5, Таблица 3). Также группа, дополнительно получившая разряд тока, показала увеличение уровней DOPAC и 5-HIAA, а также отношения DOPAC к дофамину (Рис. 5, Таблица 3). В тоже время, сертралин в поведенчески активной в тесте концентрации (15 мг/л, Эксперимент 10) снизил отношение как 5-HIAA к серотонину, так и DOPAC к дофамину в сравнении с группой, подвергнувшейся простому тестированию, как и амитриптилин (1 мг/л), который также снизил уровень 5-HIAA (Рис. 6, Таблица 4).

Таблица 1. Поведенческие эффекты различных стрессоров (Эксперименты 1-2), препаратов (Эксперименты 3-5) и внешних факторов (Эксперименты 6-7) на поведение *Danio rerio* в тесте подвешивания за хвост (ТПХ) *[191]*. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. ***p<0,008 против контрольной группы, МВ-тест для Экспериментов 1-2 (n = 15). *p<0,05 против контрольной группы, тест Данна для попарных сравнений статистически значимых по КВ-тесту данных в Экспериментах 3-4. #p<0,05 по КВ-тесту Также см. Рис. 2 и 3 для дополнительных данных.

Поведенческие показатели	**Результаты**			
Стрессоры (Эксперименты 1-2)				
	Контроль	Электрический ток	Контроль	Феромон тревоги
Число эпизодов активности	9±1	13±2	10±2	8±1
Время, проведенное в активности, сек.	89±16	32±7*	26±8	11±2
Общая активность, %	1±0,2	0,3±0,1*	0,2±0,1	0,1±0,1
Общая мобильность, %	15±3	4±1*	7±1	4±0,5*
Время, проведенное в мобильности, сек.	59±12	13±4*	16±6	6±2
Фармакологические воздействия (Эксперименты 3-5)				
	Контроль	Концентрации препаратов		
Эксперимент 3: Сертралин		2 мг/л	10 мг/л	15 мг/л
Время, проведенное в мобильности, сек.	20±6	18±4	40±6	49±5* #
Эксперимент 4: Амитриптилин		1 мг/л	1,5 мг/л	2 мг/л
Время, проведенное в мобильности, сек.	19,2±6	74±13*	29±9	43±11#
Эксперимент 5: Феназепам		0,1 мг/л	0,5 мг/л	1 мг/л
Время, проведенное в мобильности, сек.	19,4±6	18±9	20±7	15±7
Эксперимент 6 (эффект пола) и 7 (эффект экспериментатора)				
	Рыба мужского пола	Рыба женского пола	Экспериментатор мужчина	Экспериментатор женщина
Дистанция, см.	65±12	64±11	80±11	78±13
Время, проведенное в мобильности, сек.	16±4	18±4	26±5	18±4
Эффект диметилсульфоксида (ДМСО) (по дополнительным данным из Эксперимента 3)				
	Контроль	1% ДМСО		
Дистанция, см.	41±10	53±12		
Время, проведенное в мобильности, сек.	14±5	20±6		

Таблица 2. Поведенческие эффекты 5-минутного теста ТПХ на поведение *Danio rerio* в тесте незнакомого аквариума (ТНА; Эксперимент 8) *[191]*. **P<0,007 против контрольной группы, МВ-тест с поправкой Бонферрони для сравнения нескольких показателей (P<0,007) (n = 15; см. также Рис. 4). NS – отсутствие статистически значимых изменений (P>0,007). Не было обнаружено признаков поведения атаксии у обеих групп (данные не представлены).

Поведение в ТНА	**Контроль**	**ТПХ**	**P <0,007**
Время неподвижности, сек	53±14	108±17	P = 0,0027
Число выходов на верх	14±2	10±2	NS
Латентный период выхода на верх, сек	65±17	69±24	NS
Среднее расстояние до поверхности, см	9±1	7±1	NS
Средний угол поворота, угол	13±2	19±3	NS

Таблица 3. Нейрохимические изменения в образцах цельного мозга *Danio rerio* в результате 5 минутного тестирования в ТПХ с последующим воздействием низковольтного (0,1 В/см) электрического, определенные методом ВЭЖХ-ЭД *[191]*. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего пг/мг веса мозга или соотношения. NS – отсутствие значимых изменений. *p<0,05, пост-хок тест Данна для статистически значимых по КВ-тесту данных (n = 15; см. также Рис. 5).

Показатели	**Группы**			**H, КВ-тест**
	Контроль	**ТПХ**	**ТПХ + ток**	
Моноамины				
Серотонин (5-HT)	329±46	327±37	365±45	NS
Дофамин (DA)	207±31	264±39	285±32	NS
Норэпинефрин (NE)	946±113	1041±102	1149±109	NS
Метаболиты моноаминов				
5-гидроксииндолеуксусная кислота (5-HIAA)	142±23	247±37	324±56*	11,85, p<0,005
Дигидроксифенилуксусная кислота (DOPAC)	20±3	34±5	44±6*	9,60, p<0,01
Гомованиловая кислота (HVA)	4,5±0,5	7±1	8±1	NS
Метаболические отношения				
HVA/DA отношение	0,01±0,003	0,01±0,002	0,01±0,003	NS

Таблица 4. Нейрохимические изменения в образцах цельного мозга *Danio rerio* в результате 5 минутного тестирования в ТПХ с предварительным 20-минутным воздействием антидепрессантами сертралином (10 мг/л, Эксперимент 10) и амитриптилином (1 мг/л, Эксперимент 11) *[191]*. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего пг/мг веса мозга или соотношения. *p<0,05 против контрольной группы, МВ-тест (n=10; см. также Рис.6).

Показатели	**Группы**			
	Контроль	**Сертралин 10 мг/л**	**Контроль**	**Амитриптилин 1 мг/л**
Моноамины				
Серотонин (5-HT)	314±29	327±33	380±36	340±28
Дофамин (DA)	194±18	213±29	278±22	256±20
Норэпинефрин (NE)	711±76	665±54	1010±89	939±79
Метаболиты моноаминов				
5-гидроксииндолеуксусная кислота (5-HIAA)	167±16	137±16	227±22	146±13*
Дигидроксифенилуксусная кислота (DOPAC)	23±3	18±3	33±3	23±3
Гомованиловая кислота (HVA)	9±3	5±0,5	8±2	6±1
Метаболические отношения				
HVA/DA отношение	0,05±0,02	0,03±0,004	0,03±0,005	0,03±0,003

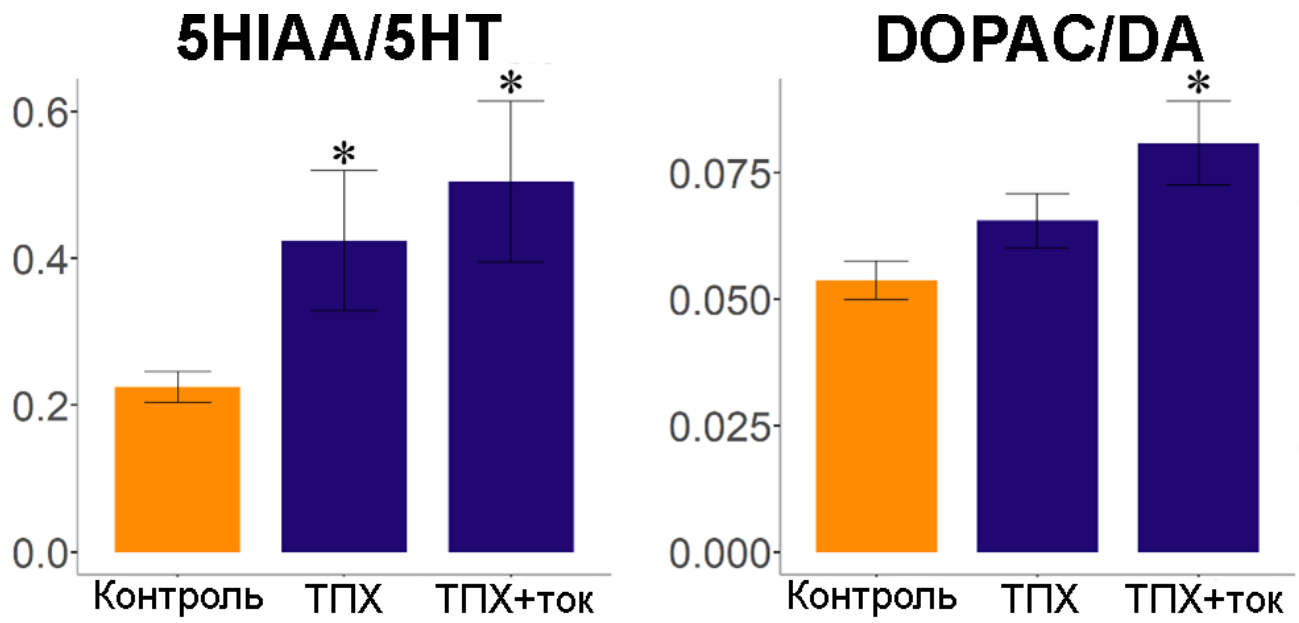

Рис. 5. Нейрохимические эффекты 5-минутного тестирования в ТПХ с последующим воздействием низковольтного (0,1 В/см) электрического тока на нейрохимические показатели, отражающие отношение метаболита серотонина (5HIAA) или метаболита дофамина (DOPAC) к соответствующим уровням моноаминов в образцах целого мозга *Danio rerio*, измеренные при помощи ВЭЖХ-ЭД *[191]*. Показатели отражают уровень оборота моноамина в мозге. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. *p<0,05 против контрольной группы, используя тест Данна для статистически значимых по КВ-тесту данных (n = 15; см. также Таблицу 3). 5-НТ – серотонин, DA - дофамин.

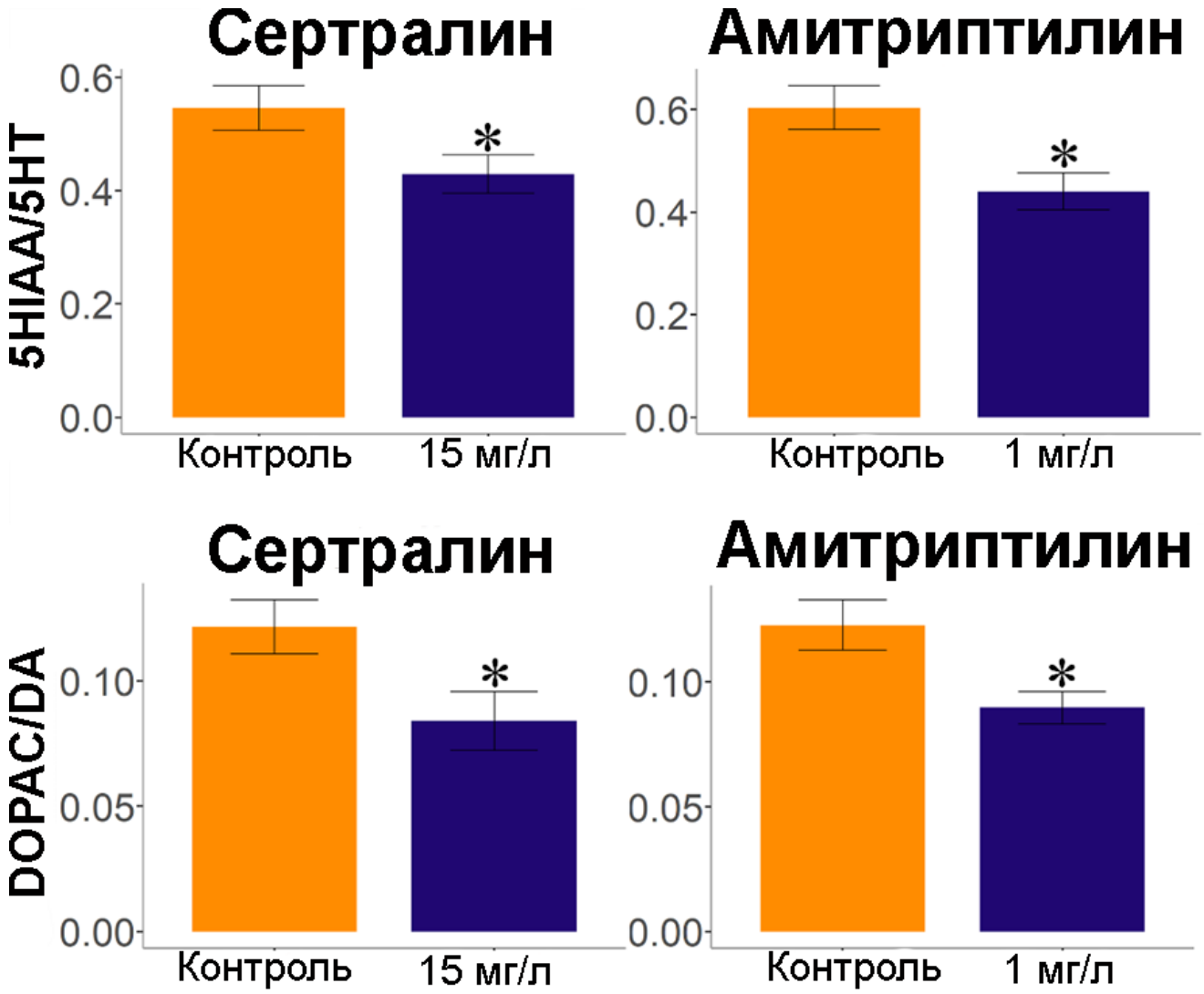

Рис. 6. Нейрохимические эффекты 5-минутного тестирования в ТПХ с предварительным 20 минутным воздействием антидепрессантами сертралином (10 мг/л, Эксперимент 10) и амитриптилином (1 мг/л, Эксперимент 11) на нейрохимические показатели, отражающие отношение метаболита серотонина (5HIAA) или метаболита дофамина (DOPAC) к соответствующим уровням моноаминов в образцах целого мозга *Danio rerio*, измеренные при помощи ВЭЖХ-ЭД [191]. Показатели отражают уровень оборота моноамина в мозге. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. *p<0,05 против контрольной группы, используя тест Данна для статистически значимых по КВ-тесту данных (n = 10; см. также Таблицу 4). 5-HT – серотонин, DA – дофамин

1.3 Обсуждение

В данном исследовании была разработана новая методика - тест подвешивания за хвост (ТПХ) *Danio rerio* как способ оценки поведения подобного «отчаянию», по аналогии с популярными тестами грызунов – ТПХ и ТПП [104, 106, 180, 236-238]. Полученные результаты (Рис. 2 и Таблица 1) позволяют предположить наличие выраженной чувствительности к острым стрессорным воздействиям в данных тестах, в том числе электрическому току. В тоже время меньшая чувствительность к феромону тревоги (наблюдаемая косвенно, по показателям активности) возможно отражает чувствительность теста к интенсивности используемых стрессоров, так как электрический ток предполагает непосредственно повреждающее воздействие, а феромон тревоги представляет собой предупреждающий сигнал и является опосредованно опасным. Данные по острым стрессорным воздействиям хорошо соответствуют известным результатам, полученным в тестах грызунов. Например при остром воздействии электрическим током на лапу [105, 106, 238] или остром стрессе удерживания [104] снижается активность грызунов в тесте Порсолта. Тест Стеру обладает аналогичной чувствительностью, проявляющуюся в увеличении времени проведенного в неподвижном состоянии после воздействия электрического тока на лапу мышей [105, 106].

Так как оба классических теста грызунов были разработаны в качестве тестов для определения антидепрессантной активности [97], является логичной валидация предложенного метода фармакологическими средствами, путем тестирования антидепрессантных и других препаратов в ТПХ для определения чувствительности теста и оценки схожести психофармакологического профиля теста с тестами на грызунах. Оба протестированных антидепрессанта с разным механизмом действия: трициклический антидепрессант амитриптилин и селективный ингибитор обратного захвата серотонина сертралин - выраженно (примерно в два раза) увеличили активность *Danio rerio* в тесте (Рис. 3 и Таблица 1).

В свою очередь противотревожный препарат бензодиазепинового класса феназепам не оказал выраженного воздействия на поведение *Danio rerio* в данном тесте (Рис. 3 и Таблица 1), аналогично исследованиям препаратов данного класса на грызунах [103]. Обобщая вышесказанное, данный психофармакологический профиль теста подвешивания за хвост хорошо соответствует известной парадигме поведения «отчаяния» у грызунов в ключевых для них эффектах и, таким образом, может быть эффективно использован для различения препаратов с антидепрессантным эффектом от препаратов с противотревожным, но не антидепрессантным эффектом у *Danio rerio*. В тоже время остается необходимой дальнейшая валидация теста, как в рамках фармакологического скрининга, так и в рамках изучения поведенческих эффектов в моделях психических и неврологических нарушений *Danio rerio*.

Например, может быть интересным изучить взаимодействие между поведением «отчаяния» и моделями, связанными с депрессией. Так, было показано, что у грызунов поведение «отчаяния» растет только в некоторых (например, основанных на стрессорных воздействиях) моделях, связанных с депрессией [25]. Так как поведение «отчаяния» не является уникальным для данных моделей (т.е. оно наблюдается и в других парадигмах), данный подход также критикуют за недостаточную валидность [87, 239]. В дальнейшем, исследование поведения «отчаяния» у рыб может помочь определить пересечения между «отчаянием» и депрессией у позвоночных и найти общие, эволюционно-консервативные патологические пути и биомаркеры. В тоже время, остается неясным, существует ли возможность «отделить» тревожный и депрессивный фенотипы у *Danio rerio* [180]. Таким образом, исследование эффектов хронического стресса на поведение рыб в ТПХ может оказаться полезным для определения взаимодействий тревожно-, депрессивно- и «отчаяние»- подобных фенотипов у *Danio rerio* (см. Главу 2).

Кроме того, ТПХ также обладает методологическими и концептуальными ограничениями, которые необходимо обсудить. Так, может оказаться затруднительной дифференциация

некоторых возникающих эффектов от неврологических феноменов. Например, как и в тестах на грызунах, поведенческие показатели тесно связаны с моторной активностью и, таким образом, сильные седативные препараты или выраженная мышечная усталость могут снизить эффективность рыбы в тесте, без воздействия на стрессорную ось или на поведение «отчаяния» как таковое. Например, хотя амитриптилин был эффективен в ТПХ в концентрации 1 мг/л, он не снижал поведение «отчаяния» в более высоких концентрациях (Рис. 3), хотя известно, что данные концентрации являются противотревожными, что может свидетельствовать о развитии характерного гиполокомоторного эффекта амитриптилина, обнаруженного раннее [183, 185].

Аналогично тестам на поведение «отчаяния» у грызунов, природа наблюдаемого поведения, а также его связь с заболеваниями человека, остается плохо изученной (см. [103, 180] для обсуждения). Например, изначально предлагаемая Порсолтом парадигма «поведенческого отчаяния» соответствует поведению, когда животное «сдается» в его активных попытках избегания [103] и, таким образом, может соответствовать снижению психомоторной активности, наблюдаемой у депрессивных пациентов [240]. Однако, современные теории также предполагают, что эпизоды неподвижности предоставляют животному возможность отвлечься (психологический отдых) от стресса и таким образом представляют собою часть копинг-стратегии поиска-ожидания, тогда как попытки избегания являются второй частью данной стратегии [241]. Другая теория утверждает, что эпизоды неподвижности тесно связанны с «подавленной реакцией бей или беги», при которой избыточно сильные чувства агрессии или желания бегства ингибируются [242-244], и, таким образом, похожи на чувство попадания в ловушку и загнанности в угол у людей [244]. Также поведение неподвижности может быть связано с неспособностью животного поддерживать усилия по избеганию, в противоположность общей гиполокомоции, так как даже седативные антидепрессанты снижают неподвижность в тестах на поведение «отчаяния» [103], соответствуя недостатку поддержания усилий у депрессивных пациентов с психомоторными дефицитами [245].

Нейрохимический анализ показал, что активность в ТПХ у рыб связана с изменениями в серотонергической и дофаминергической активности. Более того, хотя тестирование в ТПХ приводит только к увеличению оборота серотонина, дополнительное предварительное воздействие электрическим током увеличивает как оборот серотонина, так и оборот дофамина, что выражается в увеличении уровней метаболитов - 5-HIAA и DOPAC (Рис. 5 и Таблица 3). Данные хорошо соотносятся с другими исследованиями, которые показывают выраженную серотонергическую и дофаминергическую активацию в ответ на выраженный острые стресс у различных видов, включая рыб [246-251] и, таким образом, подтверждают стрессорную природу ТПХ и его чувствительность к стрессорным воздействиям. Учитывая возможную схожесть ТПХ с тестами на поведение «отчаяния» у грызунов, нейрохимические ответы в результате ТПХ также хорошо соответствуют известным эффектам тестов на грызунах [252, 253]. Например, DOPAC в полосатом теле и отношение 5-HIAA к серотонину в передней коре и миндалине крыс, подвергнутых тесту Порсолта, становятся увеличенными [252]. Кроме того, предварительное воздействие сертралином вызвало снижение уровней отношения метаболитов к моноаминам, а воздействие амитриптилинов дополнительно снизило уровень 5-HIAA (Рис. 6, Таблица 4) после ТПХ. Таким образом, предложенный тест изменяет активность моноаминергических систем в мозге *Danio rerio*, тогда как антидепрессанты, воздействующие на данные системы, восстанавливают уровень активности данных систем (см. также [183, 185]). Несмотря на это, дальнейшие исследования необходимы для понимания роли серотонина и дофамина в поведении *Danio rerio* в ТПХ и грызунов в тестах на поведение «отчаяния». Например, исследования с применением микродиализа могут помочь наблюдать изменения внеклеточных концентраций моноаминов и их метаболитов в течение ТПХ. Среди ограничений также следует отметить, что для исследования применялись цельные образцы мозга, использование которых представляет собой более обобщенный и менее чувствительный подход для определения изменений в

нейрохимическом состоянии мозга, что вследствие, требует более глубокого, зонального исследования эффектов.

Важным для обсуждения практических и этических аспектом является вопрос того, как минимизировать болезненность и степень вмешательства в процессе иммобилизации рыбы в ТПХ, так как иммобилизация может вызывать нежелательные болевые ощущения и дискомфорт, которые в свою очередь могут оказывать влияние на результаты. Предложенный протокол, использующий губку для иммобилизации (Рис. 1), подтвердил свою относительную безопасность, так как рыбы, протестированные в ТПХ, не обладали выраженными моторными дефицитами и поведением атаксии при последующем тестировании в ТНА (Рис. 4, Эксперимент 8). Несмотря на то, что ни одно животное не погибло при тестировании, для корректного проведения ТПХ и снижения вреда, в связи с относительно тонкими манипуляциями, является необходимым его проведение только высокотренированными экспериментаторами. Однако, при соблюдении всех необходимых условий, ТПХ является безопасным методом для оценки поведения *Danio rerio*. Что важно, рыбы в ТПХ содержатся в обычной для них водной среде, без риска гипоксического стресса и изменений температуры, в отличие от многих других стрессорных воздействий [254-256]. Также важно отметить, что рыбы подвергнутые ТПХ не обладали не только неврологическими/моторными отличиями, но и изменениями в уровне тревожного поведения в ТНА, что также может свидетельствовать о высокой безопасности процедуры.

Так как *Danio rerio* обладают выраженным половыми различиями в различных моделях [188, 218, 219] и тесты на поведение «отчаяния» у грызунов также часто выявляют такие отличия [206, 257], является логичным оценить эффекты половой принадлежности на фенотип, наблюдаемый в тесте. В данной работе не было обнаружено эффектов пола на поведение *Danio rerio* в тесте ТПХ (Таблица 1), в тоже время, существует вероятность, что уровень активности двух полов может меняться в разной степени в зависимости от экспериментального воздействия,

например фармакологическими препаратами, что говорит о важности дальнейших исследований в данной области.

Учитывая большую обеспокоенность научного сообщества, связанную с воспроизводимостью исследований [221], включая исследования на *Danio rerio* [223], особенное внимание должно уделяться методологическим аспектам моделей. Например, некоторые относительно простые и понятные манипуляции, такие как стрессирование при помощи преследования сетью, часто описаны недостаточно полноценно для воспроизведения [258-260]. Некоторые другие модели, такие как батареи хронического стресса, несмотря на хорошее описание в литературе [154, 158, 163, 255], включают в себя сложные манипуляции, которые сложно стандартизировать и воспроизвести между и внутри лаборатории. С этой точки зрения, ТПХ представляет собой простую процедуру, с легко воспроизводимыми экспериментальными условиями и с малым количеством простых и легко оцениваемых автоматически поведенческими показателями (Рис. 1, Таблица 1). Таким образом, ТПХ полностью соответствует текущим принципам научных исследований в рамках потенциала воспроизведения. Более того, использование недорогого оборудования, в сочетании с недорогими программами для автоматического анализа поведения [261, 262], делает модель доступной для широкого использования.

В данной работе наблюдается относительно высокое колебание базовой активности между контрольными группами в разных экспериментах (Рис. 2-3, Таблица 1), что однако не позволяет сделать выводы об избыточной изменчивости поведения, так как подобные колебания также ярко выражены в других поведенческих тестах на данном модельном организме [218, 263]. В целях более подробного изучения данных отличий был проведен эксперимент, сравнивающий эффекты двух различных экспериментаторов на поведение *Danio rerio,* который не подтвердил наличие какого-либо эффекта. Хотя отсутствие эффекта экспериментатора на стрессорное поведение *Danio rerio* отмечалось и в других моделях и тестах [229, 264], следует отметить, что

оба экспериментатора являлись обученными и тренированными (более 10 экспериментов с 60 рыбами каждый) и недостаток обучения может привести к выраженным отличиям в связи с трудностью манипуляций. Скорее всего, высокая вариабельность контрольных групп может объясняться комбинацией неизвестных внешних и внутренних факторов, которые необходимо будет определить в будущем. Возможность определения эффектов воздействия в сравнении с контрольной интактной группой, остается наиболее важной целью при нейробиологических исследованиях и наиболее критичным является обеспечение одинаковых межгрупповых условий для обеих групп, что и было произведено в данном исследовании. Следует также отметить, что стандартизация экспериментальных условий не всегда приводит к снижению вариабельности поведения в животных моделях [265, 266]. Таким образом, колебания поведения в контрольных группах не является уникальным для ТПХ или для *Danio rerio* и не может рассматриваться как негативный фактор в тесте.

Обобщая вышесказанное, в данной Главе был предложен тест ТПХ, как эффективный новый метод для изучения поведения, связанного со стрессом и антидепрессантной активностью у *Danio rerio*. Дальнейшие исследования необходимы для более тщательного изучения фенотипа, а также для детального определения фармакологической чувствительности теста и его валидности. Учитывая важность преклинического тестирования препаратов, а также снижения его стоимости, введение ТПХ в исследовательскую практику может помочь снизить стоимость и ускорить поиск новых лекарственных средств с антидепрессантной активностью. Использование *Danio rerio* также может быть эффективным с точки зрения этического принципа 3R – замена, снижение и улучшение (replacement, reduction and refinement) [147, 267]. Например, ТПХ использует менее сложный и «разумный» организм (рыбы вместо грызунов), совместно с менее инвазивной процедурой введения препаратов (растворение в воде вместо инъекций). Что немаловажно, ТПХ может быть использован в высокопроизводительной форме для определения наиболее активных препаратов для дальнейшего более затратного тестирования на грызунах.

Так как механизмы, обеспечивающие поведение «отчаяния» у животных, остаются плохо изученными [25, 26, 180], а их изучение часто затруднено сложными фармакологическими и стрессорными ответами [87, 268], использование *Danio rerio,* как более простого организма, может оказаться эффективным для изучения поведения «отчаяния» у позвоночных и определения эволюционно-консервативных путей, связанных с данной экспериментальной манипуляцией.

Глава 2 Поведенческие, молекулярные и нейрохимические эффекты хронического непредсказуемого стресса у *Danio rerio*

2.1 Методы, животные и оборудование

Животные и их содержание

В эксперименте использовались взрослые короткохвостые, экспериментально наивные *Danio rerio* возраста 3-5 месяцев (соотношение полов 1:1), которые были приобретены у местного завозчика (Аксолотль, Санкт-Петербург, Россия) и содержались в течение минимум 3 недель в стандартных условиях (см. далее) в группах по 10-15 рыб в 4-литровых аквариумах (плотность содержания 2,5-3,75 рыбы на литр) в помещении для содержания водных животных Национального Медицинского Исследовательского Центра им. В. А. Алмазова в стойках для содержания ZebTec Active Blue Stands с системой фильтрования воды по типу обратного осмоса Water Treatment Unit (Tecniplast, West Chester, USA), заполненных проточной системной фильтрованной водой с температурой и водородным показателем, поддерживаемых на уровне 27±0,5°C и pH 7,4 соответственно. Освещение (950-960 люкс) в помещении содержания было обеспечено флуоресцентными лампами мощностью 18 Вт с циклом дня и ночи 12 к 12 (за исключением имплементации модели, Таблица 5). Питание рыб обеспечивалось кормлением дважды в день при помощи небольших гранул Neon Micro Granules for fish 1-2 см в диаметре (Dajana Pet, Bohuňovice, Czech Republic) в соответствии со стандартами кормления *Danio rerio* [197] (за исключением имплементации ХНС, Таблица 5). Все рыбы принадлежали к одной базовой популяции и были распределены по экспериментальным группам случайным образом с использованием генератора случайных чисел (https://www.random.org/). Все без исключений тестируемые животные были включены в итоговый анализ. Все эксперименты были выполнены в соответствии с планом протокола, все анализы и полученные данные были включены в работу, без исключений.

Таблица 5. Протокол хронического непредсказуемого стресса, использованный в исследовании (адаптирован с [163]). Рыбы, прошедшие поведенческое тестирование, были исключены из дальнейшего моделирования, эвтаназированы, мозги извлечены для дальнейших исследований [192].

День ХНС	Стрессовые воздействия	Поведенческие тесты
1	Смена аквариума → локальная гипотермия*	
2	Преследование сачком (10 мин) → новые объекты **(6 ч)	
3	Скучивание (2ч) → Экспозиция воздухом ***	
4	Темнота (24 ч)	
5	Депривация еды (24 ч)	
6	Смена воды → шум в незнакомом аквариуме **** (4 ч)	
7	Феромон тревоги ***** → смешение когорт	Неделя 1 ТНА/ТСА
8	Яркий свет (4 ч) → новые объекты (8 ч)	ПК
9	Скучивание (2 ч) + смешение когорт → преследование (15 мин)	ТПК
10	Шум в незнакомом аквариуме **** (5 ч) → смена воды	Эвтаназия
11	Темнота (24 ч)	
12	Депривация еды (24 ч)	
13	Экспозиция воздухом → локальная гипотермия	
14	Яркий свет (6 ч) → феромон тревоги	Неделя 2 ТНА/ТСА
15	Шум в незнакомом аквариуме (6 ч) → смешение когорт	ПК
16	Новые объекты (10 ч) → низкий уровень воды (8 ч) + смена воды	ТПК
17	Скучивание (3 ч) + смешение когорт → феромон тревоги	Эвтаназия
18	Темнота (24 ч)	
19	Депривация еды (24 ч)	
20	Преследование (20 мин) → локальная гипотермия	
21	Яркий свет (8 ч) → феромон тревоги	Неделя 3 ТНА/ТСА
22	Скучивание (12 ч) → смешение когорт	ПК
23	Экспозиция воздухом → низкий уровень воды (10 ч)+смена воды	ТПК
24	Шум в незнакомом аквариуме (8 ч) → феромон тревоги	Эвтаназия
25	Темнота (24 ч)	
26	Депривация еды (24 ч)	
27	Яркий свет (12 ч) → низкий уровень воды (12 ч)	
28	Смена аквариума + смешение когорт → экспозиция воздухом	Неделя 4 ТНА/ТСА
29	Депривация еды (24 ч) → локальная гипотермия	ПК
30	Яркий свет (14 ч) → преследование (30 мин)	ТПК
31	Феромон тревоги → новые объекты (18 ч)	Эвтаназия
32	Темнота (24 ч)	
33	Депривация еды (24 ч)	
34	Шум в незнакомом аквариуме (10 ч) → скучивание (12 ч)	
35	-	Неделя 5 ТНА/ТСА
36	-	ПК
37	-	ТПК
38	-	Эвтаназия

ТНА – тест незнакомого аквариума, ТСА – тест темно-светлого аквариума, ПК – тест на построение косяка, ТПК – тест подвешивания за хвост

*добавление 0,5 л льда в аквариум

**добавление в аквариум 20 неизвестных игрушек из киндер-сюрприза

***путем извлечения всей когорты в одном сачке (30 сек, чередуется с 1 мин в аквариуме х 5 раз)

****используя 40-ваттные колонки

*****5 мл феромона тревоги на 1 л воды, извлечен по методике [143, 191]

Хронический непредсказуемый стресс (ХНС)

Экспериментальный дизайн исследования обобщен на Рис. 7 и в Таблице 5, используя 5-недельный протокол ХНС, по аналогии с [163]. Рыбы из контрольной группы содержались в

условиях, аналогичных экспериментальной когорте, но оставались экспериментально наивными на протяжении исследования аналогично [163]. На 28 день рыбы, подвергнувшиеся протоколу ХНС, были разделены на две группы (стресс и флуоксетин), обе из которых продолжили подвергаться протоколу ХНС, однако группа флуоксетина также подвергалась хроническому воздействию Селективным Ингибитором Обратного Захвата Серотонина (СИОЗС) флуоксетина. Флуоксетин использовался в концентрации 0,1 мг/л в течении последних 11 дней исследования путем растворения в домашних аквариумах (Рис. 7 и Таблица 5). Флуоксетин был выбран в данном исследовании как классический антидепрессант класса СИОЗС с хорошо изученной клинической активностью [269-271] и доказанной эффективностью в исследованиях на грызунах [272-275] и *Danio rerio* [143, 157, 163, 276, 277]. Концентрация и длительность воздействия были выбраны на основе прошлых работ посвященных ХНС на *Danio rerio* [163].

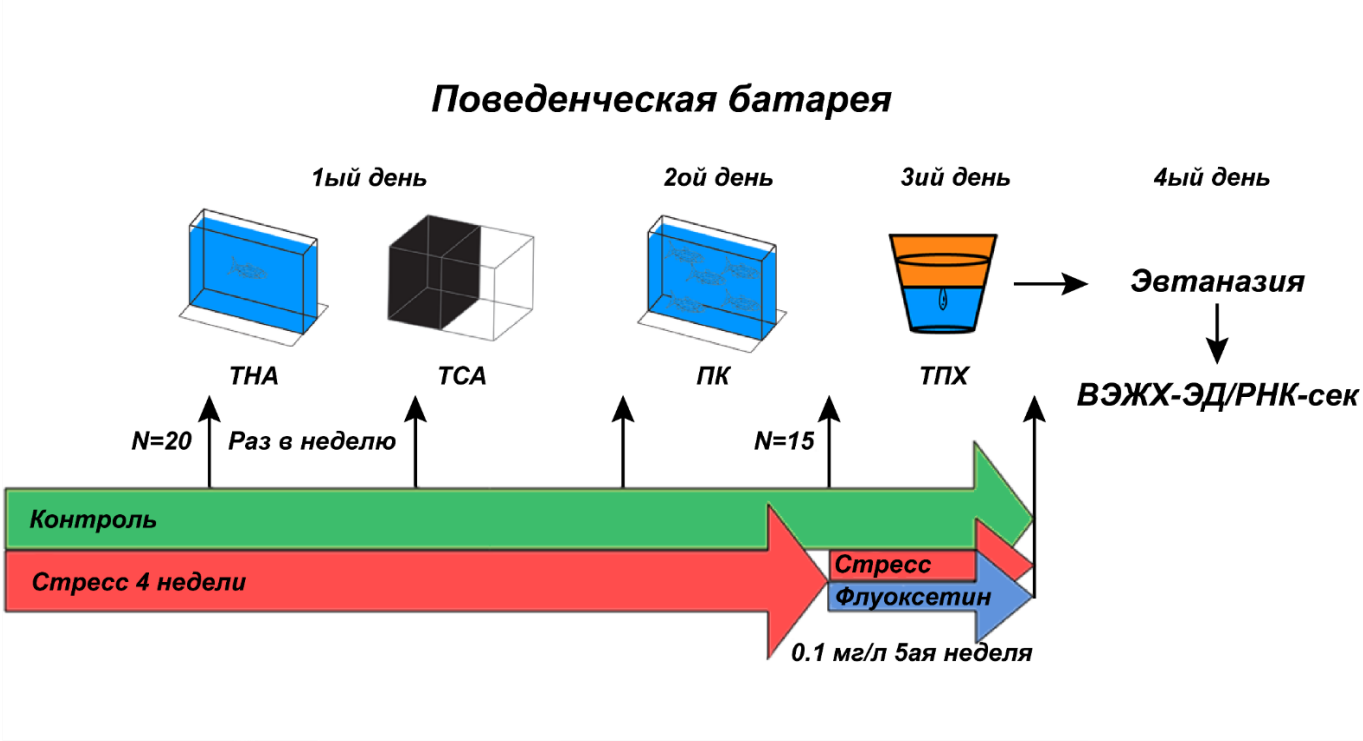

Рис. 7. Краткая диаграмма экспериментального дизайна [192]. ТНА – тест незнакомого аквариума, ТСА – тест темно-светлого аквариума, ПК – тест на построение косяка, ТПХ – тест подвешивания за хвост.

Поведенческое тестирование

Поведенческое тестирование параллельных когорт *Danio rerio* с различной продолжительностью стресса (1-5 недели ХНС) проводилось ежедневно при помощи 3-дневной поведенческой батареи, через один день после последнего стрессорного воздействия (Рис. 7 и Таблица 5). Поведенческое тестирование было выполнено в период с 9:00 до 18:00 (тест незнакомого аквариума, тест на построение косяка и тест подвешивания за хвост *Danio rerio* между 9:00 и 12:00 и тест темно-светлого аквариума с 15:00 до 18:00). Поведенческая батарея состояла из индивидуального тестирования *Danio rerio* в тесте незнакомого аквариума (1-ый день утро), тесте темно-светлого аквариума (1-ый день вечер), тесте на построение косяка (2-ой день утро) и тесте подвешивания за хвост *Danio rerio* (3-ий день утро), как показано на Рис. 7. Тестирование *Danio rerio* спустя сутки после последнего стрессорного воздействия было выбрано здесь для того, чтобы избежать эффектов недавнего острого стрессирования на поведение, фокусируясь таким образом на базальных, продолжительных патологических эффектах хронического стресса. Рыбы, прошедшие поведенческую батарею, исключались из дальнейшего протокола ХНС в соответствующие дни, и не получали стрессорных воздействий во время поведенческого тестирования и были эвтаназированы после тестирования. Использованный протокол был выбран, как один из хорошо отлаженных протоколов *Danio rerio,* вызывающий выраженные поведенческие и молекулярные отклонения у *Danio rerio,* согласованные с другими ХНС моделями [163]. Перед поведенческим тестированием все рыбы (n=20 в недели 1-3 и n=15 в недели 4-5, Рис.7) были перемещены из комнаты содержания в комнату поведенческого тестирования и акклиматизировались к комнате в течение двух часов. После поведенческого тестирования, рыбы возвращались в домашние аквариумы в акватической системе. Специфическая экспериментальная батарея была выбрана в данном исследовании в связи с низкой чувствительностью *Danio rerio* к эффекту батареи тестов [278]. Батарея была организована в соответствии с интенсивностью стрессоров, от низко стрессовых тестов до

высоко стрессовых тестов в целях снижения потенциальных эффектов предыдущих тестирований, как предложено в [126].

Тест незнакомого аквариума был выбран как наиболее чувствительный и широко используемый поведенческий тест для изучения тревогоподобного поведения и локомоции у *Danio rerio* [128, 173, 175]. Методология теста аналогична прошлым работам [161, 176]. Аквариумом для теста выступал 2 литровый прямоугольный аквариум (20 высота × 20 длина × 5 ширина в см), заполненный водой до 19 см, условно разделенный на две равные горизонтальные части (верхняя и нижняя половины). Задние и боковые стенки аквариума были заклеены снаружи непрозрачной белой пленкой для увеличения контраста рыбы относительно фона и снижения внешних визуальных стимулов в течение записи поведения. Опыты были записаны на экшн-камеру SJ4000 (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) на скорости записи 60 кадров/сек. Были изучены расстояние, пройденное за время тестирования (см), время неподвижности (сек), время, проведенное в верхней половине аквариума (сек) и число переходов туда. Видеозаписи были обработаны с использованием программы автоматической обработки поведенческих записей EthoVision XT11.5 (Noldus IT, Wageningen, Netherlands), как и в других работах [228, 229].

Тест темно-светлого аквариума был выбран для данной работы как другой широко используемый тест для оценки тревожного поведения *Danio rerio* [173, 279]. Аквариум для тестирования представлял собой 20 литровый аквариум (20 высота × 50 длина × 20 ширина в см), заполненный водой на 15 см в высоту и разделенный на две равные половины – черную и белую. Опыты были записаны на экшн-камеру SJ4000 (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) на скорости записи 60 кадров/сек, аналогично тестированию в тесте незнакомого аквариума. Каждое видео было затем обработано обученными и тренированными экспериментаторами, не осведомленными об экспериментальных воздействиях. Оценивались время, проведенное в светлой половине аквариума и количество переходов в эту зону.

Тест на построение косяка был выбран в данной работе как распространенный метод анализа социального поведения и поведения, связанного со стресс реакциями у *Danio rerio* [280]. В качестве поведенческого аппарата для тестирования был использован незнакомый аквариум, описанный выше. В процессе тестирования рыбы из каждой из групп помещались в аквариум группами по 5 рыб и спустя 5 минут после акклиматизации к аквариуму сформированные ими косяки фотографировались каждые десять секунд в течение одной минуты, получив в результате 6 фотографий на каждый аквариум (n=24 для недель 1-3, n=18 для недель 4-5), аналогично [280, 281]. Каждая фотография затем была откалибрована относительно размеров аквариума и проанализирована двумя высоко тренированными экспериментаторами (не осведомленными об экспериментальных воздействиях), которые оценивали среднее расстояние между рыбами (см) и среднее расстояние до поверхности воды (см) для каждой рыбы на фотографии, используя программу ImageTool (University of Texas Health Sciences Center, San Antonio, TX). Поведенческие характеристики, оцененные в тестах незнакомого аквариума, темно-светлого аквариума и построения косяка, полностью соотносятся с установленными поведенческими фенотипами согласно Zebrafish Behavioral Catalog (ZBC) [282].

Тест на поведение «отчаяния» был применен как разработанный в рамках данной работы (Глава 1) тест для оценки стрессового поведения и воздействия психоактивных веществ на *Danio rerio*, аналогичный тестам на поведение «отчаяния» грызунов и являющийся разносторонне чувствительным по отношению к острому стрессу и воздействию антидепрессантами и не чувствительным к воздействию противотревожных препаратов [191] (Глава 1). Учитывая сложность взаимодействия поведения «отчаяния» и хронического стресса у грызунов [30, 283-285], является в особенности интересным изучение эффектов ХНС на поведение «отчаяния» в тесте подвешивания за хвост *Danio rerio*. В данном тесте каудальная часть рыбы иммобилизируется в течение 5 минут с использованием влажной губки из вискозы (8 длина х 4 высота х 5 ширина в см), разрезанной снизу посередине острым лезвием на глубину 2 см и

прикрепленную к стенкам пластикового стаканчика (см. далее) аналогичными разрезами по бокам губки [191] (Глава 1). Краниальная половина рыбы при этом остается свободно движущейся в пластиковом стаканчике, представляющем собой 7 x 5,5-4,8 cm обрезанный конус, полностью заполненный водой [191]. Опыты были записаны на экшн-камеру SJ4000 (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) на скорости записи 60 кадров/сек и затем обработаны тремя обученными наблюдателями (не осведомленными об экспериментальных группах), оценивающими длительность активных попыток избегания ситуации длительностью более 2 сек [191] (Глава 1). Активные попытки избегания определялись как продолжительные сократительные движения тела, разделенные эпизодами неподвижности – полной обездвиженности тела, за исключением движений жабр и глаз [191] (Глава 1).

Нейрохимический анализ

Моноамины в мозге играют важную роль в стрессовых и аффективных (эмоциональных) расстройствах как у человека, так и в моделях грызунов и *Danio rerio* [140, 161, 183, 185, 190, 191, 286, 287]. Для исследования динамики их изменений в мозге *Danio rerio* в результате воздействия ХНС были изучены концентрации норэпинефрина, серотонина, дофамина, 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-HIAA), 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты (DOPAC) и гомованиловой кислоты (HVA) в образцах целого мозга *Danio rerio* при помощи метода Высокоэффективной Жидкостной Хроматографии с Электрохимическим Детектором (ВЭЖХ-ЭД), аналогично другим работам [183, 185, 190, 191] (Глава 1). Как показано на Рис. 7 образцы мозга были собраны на следующий день после поведенческой батареи, между 9:00 и 13:00 часами. Однодневный интервал был выбран в целях минимизации немедленных эффектов поведенческого тестирования, позволяя сосредоточится на базовых эффектах ХНС. Рыбы, использованные для нейрохимического исследования, были выбраны случайным образом из соответствующих экспериментальных групп, используя генератор случайных чисел

(https://www.random.org/). Образцы для анализов не были объединены и анализировались индивидуально.

Рыбы были эвтаназированы в ледяной воде непосредственно после извлечения из домашних аквариумов и их мозги были извлечены на льду и криоконсервированы в жидком азоте для дальнейших анализов [191] (Глава 1). В день анализов образцы были взвешены и помещены в 10 мкл ледяной 0,1 М раствора хлорной кислоты (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) с 100 нг/мл 3,4-дигидроксибензиламина (DHBA, внутренний стандарт) на каждый 1 мг ткани мозга для сохранения нейрохимических аналитов аналогично [191]. Затем образцы были гомогенизированы ультразвуковым способом (сонифицированы; соникатор Q125 (Qsonica, LLC, Newtown, CT, USA)) в течение 10 секунд на половине мощности соникатора, очищены методом центрифугирования с последующим извлечением водной фазы и фильтрацией ее через 0,22 мкм центрифужных фильтров Durapore-PVDF (Merck Millipore, Billerica, MA, USA), аналогично [191]. ВЭЖХ-ЭД была проведена, используя колонку CA-5ODS на хроматографе HTEC-500 (Eicom, San Diego, CA, USA) с углеродным электродом WE-3 G, с потенциалом +650-мВ. Мобильная фаза для хроматографии состояла из 0,1 М фосфатного буфера, 100 мг/л октилсульфоната натрия, 50 мг/л этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA), 17% метанола с водородным показателем, доведенным до pH 4,5 при помощи фосфорной кислоты (все реагенты приобретены в Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) аналогично [191]. Данные хроматографии были нормализованы, используя индивидуальные концентрации DHBA в образцах, и представлены как пк/мг ткани мозга. Также были исследованы отношения метаболитов моноаминов к самим моноаминам - 5-HIAA/серотонин, DOPAC/дофамин и HVA/дофамин, отражающие оборот соответствующих моноаминов, аналогично [191].

РНК-секвенирование

Образцы мозга для анализа генной экспрессии были собраны без объединения образцов (1 мозг на 1 образец) на следующий день после поведенческой батареи, между 9:00 и 13:00.

Однодневный интервал был использован для минимизации возможных острых эффектов поведенческого тестирования на генную экспрессию, позволяя сконцентрироваться на базовых эффектов ХНС. Рыбы (n=6-7) для РНК-секвенирования были отобраны случайным образом, используя генератор случайных чисел (https://www.random.org/). Аналогично нейрохимическому анализу, рыбы были эвтаназированы в ледяной воде непосредственно после извлечения из домашних аквариумов и их мозги были извлечены на льду и криконсервированы в жидком азоте для дальнейших анализов. Изоляция РНК была выполнена TRI-reagent (Molecular Research Center, каталожный номер 118) в соответствии с инструкциями производителя. Качество оценивалось при помощи электрофореза, Quantus, и QIAxel. Поли(А) РНК была очищена при помощи набора Dynabeads mRNA Purification Kit (Ambion). Библиотека Illumina была сделана из поли(А) РНК с набором NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit для Illumina (NEB) в соответствии с инструкциями производителя. Секвенирование было выполнено на Illumina HiSeq2500 с длиной прочтений в 140 пн, с 27 миллионом прочтений, сгенерированных для каждого образца.

Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (ртПЦР)

Для подтверждения результатов РНК-секвенирования также было проведено краткое исследование экспрессии выбранных генов (*isg15, saga, otx5* и *tpm4b*) в образцах целого мозга *Danio rerio* с использованием одного гена домашней базы (*b-act*), используя метод ртПЦР в соответствии с другими работами, с небольшими изменениями [163, 189, 190, 233]. Гены были выбраны исходя из анализа центральности (хаб, hub) их вершин (точек, node) в построенных графах протеин-протеин взаимодействий (см. далее в разделе анализ графов) и различных паттернов их экспрессии среди групп (*isg15* – дифференциально экспрессируемый ген как в стрессовой группе, так и во флуоксетине, *saga* – в стрессе против флуоксетина, *otx5* – стресс против контрольной группы и против флуоксетина и *tpm4b* – стресс против контрольной группы). Дизайн праймеров был осуществлен, используя базу данных National Center for Biotechnology

Information (NCBI) Primer-BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), или используя праймеры из прошлых экспериментов (*b-act*) (Таблица 6) и синтезированы Evrogen, Ltd. (Москва, Россия).

Таблица 6. Список праймеров, использованных в работе [192].

Название гена/направление		**Последовательность праймера**
b-act	Прямой	CATCAGGGTGTCATGGTTGGT
	Обратный	TCTCTTGCTCTGAGCCTCATCA
isg15	Прямой	ACTTGATTTCGGTGCGACTTGC
	Обратный	GCTGCATCGTCACCGAGTTAT
otx5	Прямой	CGCCGTCGGTTACCCTAACAC
	Обратный	GGTTTTGGAGAACAGCGCCT
saga	Прямой	GTAGATCCAGTGGACGGTGTC
	Обратный	GTCGTCATCACGGCCATACC
tpm4b	Прямой	TCGCGTTTGCGATGATGTCTG
	Обратный	CTGCTACATCTCCTTCAGCTTTCT

Аналогично другим молекулярным анализам в данной работе, образцы для ртПЦР были собраны без объединения образцов (1 мозг на 1 образец) на следующий день после поведенческой батареи, между 9:00 и 13:00 часами. Как уже было отмечено, однодневный интервал после последней процедуры ХНС был выбран здесь для исключения острых эффектов поведенческого тестирования на генную экспрессию, позволяя сконцентрироваться на базовых эффектах ХНС на экспрессию генов. Рыбы (n=10) для анализа были выбраны случайным образом из экспериментальных групп, используя генератор случайных чисел (https://www.random.org/). Рыбы были эвтаназированы ледяной водой непосредственно после извлечения из домашних

аквариумов и их мозги были извлечены на льду и криконсервированы в жидком азоте для дальнейших анализов. Изоляция РНК была выполнена аналогом TRIzol ExtractRNA (Евроген, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Далее кДНК была синтезирована, используя олиго(дТ)20 праймеры с одинаковым количеством РНК на образец (набор MMLV RT Евроген, Россия). Затем была выполнена процедура ртПЦР, используя набор qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия) и амплификатор в реальном времени CFX Connect Real-Time (Bio-Rad laboratories, Hercules, CA, USA) в 3 повторностях на каждый образец. ПЦР реакция состояла из инкубирования смеси в течение 5 минут на 95 °C для активации Taq ДНК-полимеразы, за которой следовал цикл из денатурации при температуре 95 °C в течение 20 секунд, отжига на температуре 60 °C в течение 30 секунд и элонгации на температуре 72 °C в течение 20 секунд. Уровни генной экспрессии были нормализованы по уровню экспрессии гена домашней базы β-actin, используя метод Пфаффла (Pfaffl) [288, 289].

Статистический анализ и работа с данными

Настоящее исследование использовало обобщенные линейные модели (ОЛМ) для анализа динамики наблюдаемых изменений вызванных ХНС и хроническим воздействием флуоксетина. ОЛМ является обобщением методов регрессии, которое позволяет переменным иметь распределения отличные от нормального, делая этот метод пригодным для анализа ненормальных данных [290]. ОЛМ широко используется в различных областях современной международной литературы [291-293], включая исследования на *Danio rerio* [294]. Для поведенческих и нейрохимических анализов был выполнен дисперсионный анализ методом хи-квадрата Вальда (ANOVA, тип II) для полученных ОЛМ (Таблица А.1 в приложении) с пост-хок тестом Тьюки для попарных сравнений статистически значимых данных ОЛМ/теста Вальда (Таблицы А.2-А.4 в приложении). ОЛМ является эффективным методом для анализа многофакторных данных, который позволяет анализировать как параметрические, так и непараметрические данные [291, 292, 295, 296].

Для изучения эффектов ХНС на поведение *Danio rerio* в динамике, эффекты недели тестирования, группы и их взаимодействия были использованы как предикторы в модели ОЛМ, сравнивая группу ХНС и контрольную группу в течение 1-5 недель (ОЛМ1). Для изучения эффекта флуоксетина была использована другая модель, используя фактор группы (3 группы: контроль, ХНС и флуоксетин) на 5 неделю воздействий для того, чтобы избежать ненасыщенности модели (отсутствия данных для 1-4 недели в группе флуоксетина), что ограничило бы возможности ОЛМ и ANOVA оценить эффект препарата (ОЛМ2; Таблица А.5 в приложении). Для выбора оптимального распределения (степень соответствия, goodness of fit) ОЛМ и функции связи (link function) для каждого параметра, были определены уровни критерия информации Акаике (Akaike information criterion, AIC) [297, 298] для распределения Гаусса (тождественная связь, identity link), распределение Пуассона (логарифмическая связь, log link), Гамма-распределение (обратная и логарифмическая связь, inverse and log links) и Обратное Гамма-распределение (обратная и логарифмическая связь, inverse and log links), выбирая модель с наименьшим уровнем AIC (индикатор того, что модель наиболее вероятно является наиболее пригодной для анализа) [299]. ОЛМ для нейрохимических исследований была построена с использованием факторов недели, группы и их взаимодействия. Для анализа данных 5-ой недели и действия флуоксетина использовался аналогичный подход. Все вычисления выполнены с использованием программы R [300].

Размер выборки был выбран исходя из прошлых исследований на *Danio rerio*, связанных со стрессорным поведением [161, 163, 183, 185, 191, 233], а также расчета размера выборки, используя пакет pwr2 программы R. Для ОЛМ1 размер эффекта был определен, используя показатель скорости (как один из основных поведенческих показателей *Danio rerio*) из работы [163] (эффект стресса; размер эффекта = 0,68) и [229] (эффект дня тестирования; размер эффекта = 0,75). Аналогично ОЛМ1, для ОЛМ2 был использован наименьший размер эффекта для показателя скорости между стрессом и флуоксетином (0,68) [163]. Результирующие размеры

выборки n=4 для ОЛМ1 и n=11 для ОЛМ2 (для подгрупп группа*неделя) были далее скорректированы для учета потенциальной смертности (например вследствие ХНС), количества рыб, необходимых для молекулярных исследований, а также потенциального наличия показателей с меньшим размером эффекта. В итоге, эксперимент был начат с n=20 на неделях 1-3, но был снижен до n=15 на неделях 4-5, в соответствии с этическим принципом снижения числа использованных животных в исследовании, так как не было обнаружено смертности в результате воздействия ХНС. Все графики в данной главе сконструированы с использованием пакета ggplot2 программы R версии 3.3.0 (https://ggplot2.tidyverse.org) [301]. Все рыбы были представлены в итоговом анализе без исключений, а также все запланированные анализы представлены в данной работе. Все экспериментаторы были не осведомлены о тестируемых группах, включая поведенческое, нейрохимическое и транскрипционные исследования, статистическую и видео обработку, используя индивидуальные коды для идентификации рыб и/или групп. Вся ручная обработка данных производилась как минимум двумя обученными и тренированными наблюдателями, не осведомленными о воздействиях, с меж- и внутри-оценочной надежностью >0,85, по коэффициенту корреляции Спирмана.

Для дифференциального анализа генной экспрессии прочтения были картрированы на референтный геном *Danio rerio* GRCz11, используя STAR spliced aligner [302] и обработаны далее, используя featureCounts [303] для получения сырых считываний генов (counts). 32057 генов было использовано для анализа при помощи программы R для статистических вычислений [300], пакета Bioconductor [304] и пакета DESeq2 [305]. Данный метод был выбран, как рекомендуемый инструмент для анализа экспериментов с менее 12 образцов на группу, стабильный даже внутри 0,5 кратности изменения (fold change), а также как показывающий последовательные результаты с другими методами, такими как EdgeR (при использовании точного теста (exact test)), Limma и EBSeq [306]. В анализе все строки (гены) без counts или только с одним count у всех образцов были удалены из дальнейшего анализа, получив в результате

получив 28932 генов для дальнейшего анализа. Затем анализ дифференциальной экспрессии производился при помощи Отрицательного Биномиального (Гамма-Пуассон) распределения для определения размеров факторов, дисперсии, создания отрицательных биномиальных обобщенных линейных моделей и статистики Вальда, используя функцию DESeq. P-значения были установлены, используя поправку Бенжамина-Хохберга. P-значение и коэффициент ложного обнаружения (False Discovery Rate, FDR) были установлены на значение 0,05. Анализ дифференциальной экспрессии был применен для сравнения контрольной группы и ХНС группы, группы хронического флуоксетина и контрольной группы, и группы хронического флуоксетина и ХНС группы. Списки дифференциально экспрессируемых генов, получившиеся в результате попарных сравнений групп, были сопоставлены между друг другом, и затем были выявлены гены, которые оказались представлены в нескольких сравнениях одновременно. Было определено две подгруппы генов, представленных одновременно в двух анализах. Первая подгруппа была представлена генами, совместно экспрессируемыми в группе ХНС и в группе флуоксетина в сравнении с контрольной группой. То есть первая подгруппа представляла собой гены, не изменившие свою экспрессию в результате действия флуоксетина на ХНС. Во второй подгруппе были гены, изменившие свою экспрессию в разном направлении в анализах ХНС против контрольной группы и флуоксетина против ХНС. Таким образом вторая подгруппа состояла из генов, восстанавливающих свою активность до уровня контрольной группы в результате воздействия флуоксетина. Если не указано иначе, все данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего, а P-значение установлено как $< 0,05$ во всех анализах. Для анализа ртПЦР был выполнен тест Краскела-Уоллиса (КУ-тест) с последующим пост-хок тестом Данна для попарных сравнений статистически значимых по КУ-тесту данных (Таблица А.8 в приложении). Экспериментальный дизайн исследований, а также его описание, и анализ и презентация данных были выполнены в соответствии с методическими рекомендациями

ARRIVE для исследований на животных и PREPARE для планирования и тестирования в животных исследованиях.

Анализ обогащения по функциональной принадлежности (gene set enrichment analysis, GSEA)

GSEA является широко используемым методом для анализа данных генной экспрессии, которые представляются в форме известных молекулярных путей и каскадов, что способствует эффективной оценке биологически значимых с точки зрения биологии организма изменений [307-310]. Несмотря на это, классический метод GSEA обладает некоторыми недостатками, включая невозможность работы с данными групп разных размеров и сложными экспериментальными дизайнами [311]. Один из новых подтипов GSEA, общеприменимый анализ обогащения по функциональной принадлежности (the generally applicable gene set enrichment, GAGE) для анализа молекулярных путей, призван устранить ограничения GSEA в данных аспектах [311]. Были выполнены анализы обогащения молекулярных путей баз данных Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) [312] и Gene Ontology (GO) [313] на нормализованных и трансформированных по логарифму двойки подсчетах (counts) при помощи пакета GAGE программы R [311], используя т-тест Стьюдента для попарного сравнения дифференциально экспрессируемых наборов генов в группах. FDR был установлен в 0,05 для KEGG путей и 0,01 для GO путей. FDR для GO путей был снижен в связи с тем, что база данных GO содержит значительно больше путей, чем база данных KEGG (~40 000 против ~500), и, как следствие, FDR в 0,05 приводил к большому числу статистически значимых путей дифференциально экспрессируемых по базе GO, тогда как задача исследования сконцентрироваться на наиболее статистически значимо отличающихся молекулярных путях. Наборы генов также были сгруппированы по сходству ключевых генов, вносящих вклад в наблюдаемые изменения путей, при помощи функции esset.grp (p-значение < 10e-10), для того, чтобы предоставить точную репрезентацию их функциональной взаимосвязи, выбирая наиболее

функционально значимый обогащенный набор генов, там, где это необходимо для описания результатов [314].

Анализ графов

Анализ при помощи теории графов был выполнен с использованием программы Cytoscape для интегрированных моделей биомолекулярных взаимодействий версии 3.8.0 [315, 316]. Сети (графы) взаимодействий протеин-протеин (the protein-protein interaction, PPI) были созданы на основе статистически значимо дифференциально экспрессируемых генов из всех анализов, используя базу данных STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) [317] (https://string-db.org/cgi/input.pl), из значимых PPI с добавлением 20 протеинов, которые были предложены STRING, как тесно связанные с списком протеинов (из оценки значимости связей PPI был исключен метод интеллектуального анализа текста, а также из сети были исключены все протеины, не имеющие связи с основной сетью). Минимальная степень взаимодействия между протеинами по STRING = 0,15. Получившаяся в результате сеть PPI была проанализирована в программе Cytoscape при помощи пакета cytoHubba [318] для определения важных/центральных/хабовых (hub) протеинов (вершин, node), определяя 10 протеинов с наибольшей степенью (degree), 10 протеинов с наибольшим значением узкого места (bottleneck) и 10 протеинов с наибольшим значением, оцененных методом схемы двойного скрининга (Double Screening Scheme (DSS)), сочетающей плотность компонента максимального соседства (Density of Maximum Neighborhood Component (DMNC)) и компонент максимального соседства (Maximum Neighborhood Component (MNC)) [318]. Степень вершины (node, протеина) v была определена как число ребер вершины v, т.е. представляет собою число взаимосвязей протеина с другими протеинами. Узкое место вершины было определено, используя степень посредничества (betweenness centrality) вершины, основываясь на расчете числа наиболее коротких путей между вершину, проходящих через данную вершину [319]. Протеины, выступающие узким местом, вероятно являются важными в сети, представляя собой мосты для взаимодействия между

другими протеинами [320]. MNC вершины (node, протеина) *v* был определен как размер максимального компонента подсети *N(v)*, сконструированной вершинами смежными с *v*. DMNC вершины (node, протеина) *v* был определен как E/N^{ε}, где *N* - число вершин и *E* - число граней MNC*(v)*, а ε=1,7. DSS был далее высчитан следующим образом: для *n* наиболее существенных протеинов, ожидающихся на выходе (*n* – эмпирическая величина), *2n* протеинов были отобраны при помощи DMNC (выбирая протеины с максимальным значением DMNC). Данные протеины были ранжированы по значению MNC и *n* протеинов с верхним значением были отобраны в качестве результирующих. Метод DSS (DMNC || MNC) показал себя эффективным для определения важных протеинов в сетях PPI [321]. Сеть ко-экспрессии генов была сконструирована аналогичным способом при помощи программы Cytoscape и приложения GeneMANIA [322-324] (https://genemania.org/) и проанализирована аналогичными методами анализа графов.

2.2 Результаты

Анализ обобщенных линейных моделей 1 (ОЛМ1) был использован для сравнения поведения хронически стрессированной и контрольной группы в тесте незнакомого аквариума на протяжении 5 недель. ОЛМ1 показал наличие статистически значимого эффекта теста Вальда для факторов группы и недели по параметрам пройденной дистанции, а также времени, проведенного наверху, со статистически значимыми внутри недельными отличиями между контрольной и стрессорной группами во всех 5 неделях (Рис.8 и Таблицы А.1-А.4 в приложении). Также для параметра времени проведенного в неподвижном состоянии был выявлен статистически значимый эффект по факторам группа, неделя, а также по фактору их взаимодействия, а пост-хок тест Туки показал статистически значимое внутри недельное отличие между группами только на 2 неделе экспериментального моделирования (Рис.8 и Таблицы А.1-А.4 в приложении). Был обнаружен статистически значимый эффект для числа переходов на верх по факторам группа и взаимодействия группы и недели, но не для фактора группы в отдельности,

а тест Туки показал значимые различия между контролем и стрессорной группой на первой неделе (Рис.8 и Таблицы А.1-А.4 в приложении). ОЛМ1 также показал наличие статистически значимого эффекта по факторам группа, неделя и их взаимодействия для латентного периода выхода наверх, где пост-хок тест Туки показал наличие значимых отличий стрессорной группы от контрольной группы на 2-ой, 3-ей и 5-ой неделях тестирования (Рис. 8 и Таблицы А.1-А.4 в приложении).

ОЛМ2 анализ эффектов хронического непредсказуемого стресса, хронического воздействия флуоксетина и контрольной группы на 5-ой неделе стрессирования показало статистически значимый эффект по фактору группа для пройденной дистанции, со статистически значимыми пост-хок отличиями в тесте Туки у стрессированной группы относительно как контрольной группы, так и группы получившей воздействие флуоксетина (Рис. 8 и Таблица А.5 в приложении). Также был обнаружен статистически значимый эффект по фактору группа для времени проведенного наверху, со значимым эффектом по пост-хок тесту Туки между контрольной группой и обеими экспериментальными группами (Рис. 8 и Таблица А.5 в приложении). Латентный период выхода на верх статистически значимо отличался по фактору группа, а пост-хок тест Туки показал наличие попарных отличий между стрессированной группой и двумя другими группами (Рис. 8 и Таблица А.5 в приложении).

В тесте темно-светлого аквариума в ОЛМ1 анализа был обнаружен статистически значимый эффект для факторов группа и взаимодействия группы и недели по параметру времени проведенного в светлой зоне, а пост-хок тест Туки показал наличие статистически значимых отличий между группами на неделях 1-3, но не на других неделях (Рис. 8 и Таблицы А.1-А.4 в приложении). В тоже время, не было обнаружено статистически значимых отличий для других факторов по параметру числа переходов в светлую зону (Рис. 8 и Таблицы А.1-А.4). Также не было обнаружено статистически значимых эффектов в ОЛМ2 (Рис. 8 и Таблица А.5 в приложении).

В тесте на построение косяка ОЛМ1 показал наличие статистически значимого эффекта по фактору группа для среднего расстояния между рыбами (Рис. 8 и Таблица А.5 в приложении). Расстояние до поверхности показало статистически значимый эффект по факторам группа и взаимодействие группы и недели, с межгрупповыми отличиями на неделях 1-2, но не другими неделями (Рис.8 и Таблица А.5 в приложении). ОЛМ2 показал статистически значимый групповой эффект, а пост-хок Туки тест показал наличие значимых отличий между стрессированной группой и остальными, для средней дистанции между рыбами (Рис.8 и Таблица А.5 в приложении).

Анализ ОЛМ1 для теста иммобилизации хвоста *Danio rerio* обнаружил статистически значимый эффект недели и взаимодействия недели и группа для времени, проведенного в активном состоянии, без статистически значимых эффектов по ОЛМ2 (Рис.8 и Таблицы А.1-А.5 в приложении). 5-HIAA и отношение 5-HIAA к серотонину показали статистически значимые изменения в результате воздействия фактора взаимодействия недели и группы в нейрохимическом анализе ОЛМ2, со статистически значимыми межгрупповыми отличиями на 2-4 неделе по пост-хок тесту Туки (Рис.9 и Таблицы А.1-А.4 в приложении). Нейрохимический анализ ОЛМ2 обнаружил статистически значимый эффект фактора группа на уровень 5-HIAA и отношения 5-HIAA к серотонину, со значимыми отличиями группы флуоксетина против двух других групп по пост-хок тесту Туки (Рис.9 и Таблица А.5 в приложении).

Таблица 7. Результаты анализа по ANOVA типа 2 (тест Хи-квадрата Валда) для Обобщенных линейных моделей, используя недели (1-5) и группы (контроль и ХНС) в качестве предикторов (ОЛМ1; Таблица А.1 в приложении) [192]. Поведенческие показатели изучались в тесте незнакомого аквариума (ТНА), тесте темно-светлого аквариума (ТСА), тесте на построение косяка (ПК) и тесте подвешивания за хвост (ТПХ), см. также Рис. 8 и 9, Таблицы А.1-4 в приложении. NS – нет значимых изменений (p>0,05), DOPAC - 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота, 5-HIAA - 5-гидроксииндолуксусная кислота, HVA – гомованиловая кислота. Df – степени свободы.

Факторы	Df	χ^2	P	Факторы	Df	χ^2	p
ТНА Дистанция, см				**ТНА Время, проведенное в неподвижности, сек**			
Неделя	4,00	11,12	0,03	Неделя	4,00	21,09	<0,01
Группа	1,00	52,03	<0,01	Группа	1,00	9,51	<0,01
Неделя х Группа	4,00	9,52	NS	Неделя х Группа	4,00	11,95	0,02
ТНА Время наверху, сек				**ТНА Количество переходов на верх**			
Неделя	4,00	148,85	<0,01	Неделя	4,00	14,01	0,01
Группа	1,00	149,59	<0,01	Группа	1,00	0,25	NS
Неделя х Группа	4,00	11,76	0,02	Неделя х Группа	4,00	18,33	<0,01
ТНА Латентный период выхода на верх, сек				**ТПХ Время активности, сек**			
Неделя	4,00	17,63	<0,01	Неделя	4,00	10,67	0,03
Группа	1,00	27,06	<0,01	Группа	1,00	0,60	NS
Неделя х Группа	4,00	10,38	0,03	Неделя х Группа	4,00	19,80	<0,01
ТСА Время, проведенное в светлой части, сек				**ТСА Число переходов в светлую часть**			
Неделя	4,00	2,45	NS	Неделя	4,00	6,50	NS
Группа	1,00	31,54	<0,01	Группа	1,00	2,47	NS
Неделя х Группа	4,00	17,11	<0,01	Неделя х Группа	4,00	2,70	NS
ПК Расстояние до поверхности, см				**ПК Среднее расстояние между рыбами, см**			
Неделя	4,00	12,26	0,02	Неделя	4,00	5,36	NS
Группа	1,00	1,31	NS	Группа	1,00	12,76	<0,01
Неделя х Группа	4,00	34,86	<0,01	Неделя х Группа	4,00	5,46	NS
Дофамин, пг/мг				**Отношение DOPAC к дофамину**			
Неделя	4,00	11,02	0,03	Неделя	4,00	10,67	0,03
Группа	1,00	0,88	NS	Группа	1,00	0,37	NS
Неделя х Группа	4,00	2,77	NS	Неделя х Группа	4,00	3,80	NS
DOPAC, пг/мг				**5-HIAA, пг/мг**			
Неделя	4,00	3,51	NS	Неделя	4,00	7,19	NS
Группа	1,00	0,40	NS	Группа	1,00	2,52	NS
Неделя х Группа	4,00	3,40	NS	Неделя х Группа	4,00	14,73	0,01
Отношение 5-HIAA к серотонину				**Серотонин, пг/мг**			
Неделя	4,00	6,53	NS	Неделя	4,00	4,23	NS
Группа	1,00	2,70	NS	Группа	1,00	0,54	NS
Неделя х Группа	4,00	18,22	<0,01	Неделя х Группа	4,00	5,67	NS
Отношение HVA к дофамину				**HVA, пг/мг**			
Неделя	4,00	7,06	NS	Неделя	4,00	3,47	NS
Группа	1,00	2,59	NS	Группа	1,00	2,34	NS
Неделя х Группа	4,00	5,18	NS	Неделя х Группа	4,00	5,97	NS
Норэпинефрин, пг/мг							
Неделя	4,00	13,76	0,01				
Группа	1,00	3,79	NS				
Неделя х Группа	4,00	4,56	NS				

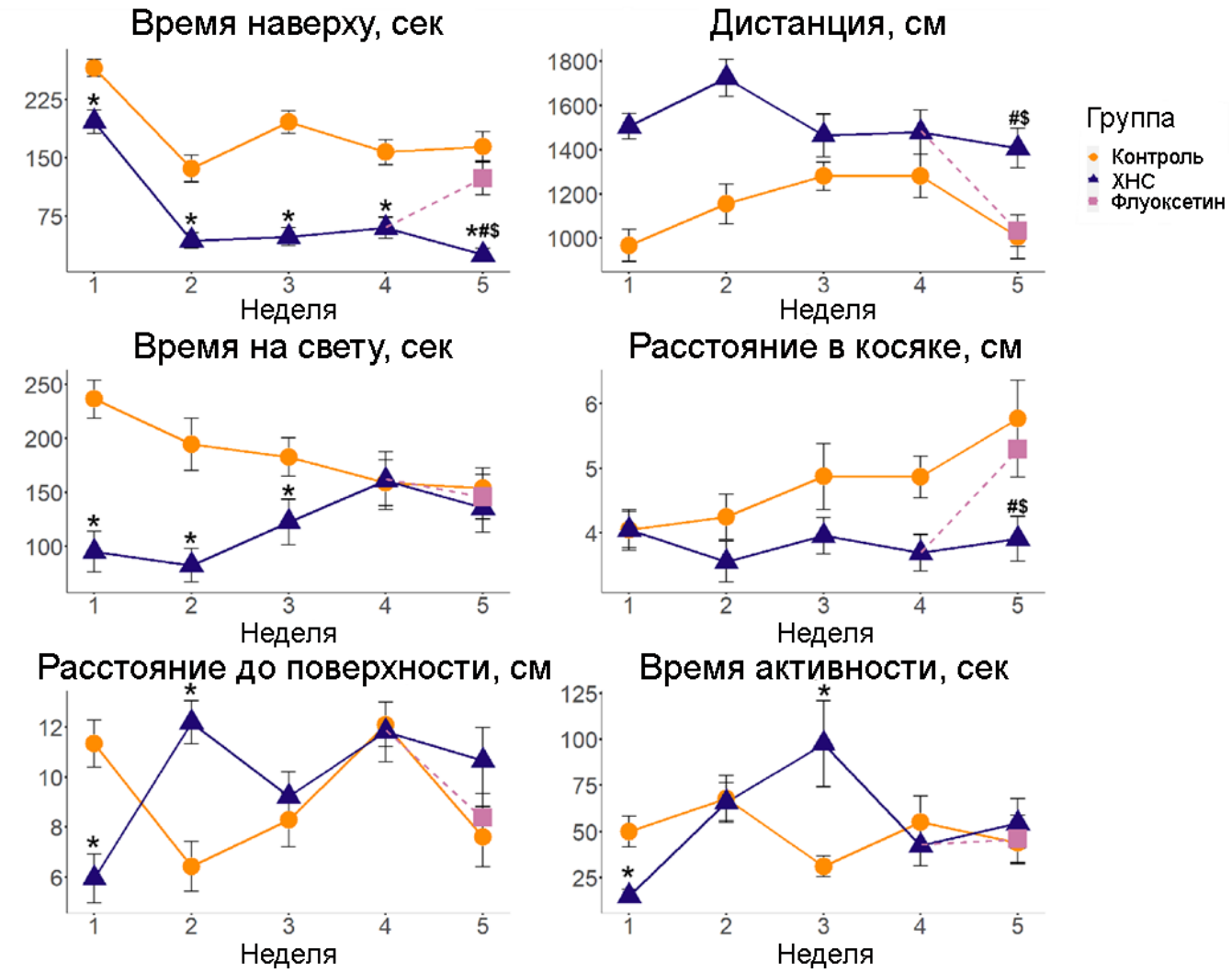

Рис. 8. Динамика поведенческих изменений, вызванных ХНС и флуоксетином в тесте незнакомого аквариума, тесте темно-светлого аквариума, тесте на построение косяка и тесте подвешивания за хвост [192]. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего (n=20 на 1-3 неделе и n=15 на неделях 4-5), *p<0,05 стресс против контрольной группы (ОЛМ1), #p<0,05 стресс против контрольной группы (ОЛМ2), $p<0,05 флуоксетин против контрольной группы (ОЛМ2) пост-хок Туки тест для статистически значимых по тесту Валда (ANOVA тип II) отличий. См. также Таблицы А.1-А.5 в приложении для статистических деталей.

Таблица 8. Результаты пост-хок Туки теста для статистически значимых по ANOVA типа 2 (тест Хи-квадрата Валда) для данных Обобщенных Линейных Моделей с использованием групп (контроль, ХНС, флуоксетин) на 5-ой неделе в качестве предиктора (ОЛМ2; Таблица А.5 в приложении) [192]. Поведенческие показатели изучались в тесте незнакомого аквариума (ТНА), тесте темно-светлого аквариума (ТСА), тесте на построение косяка (ПК) и тесте подвешивания за хвост (ТПХ), см. также см. также Рис. 8 и 9, Таблицу А.5. NS – нет значимых изменений (p>0,05), DOPAC - 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота, 5-HIAA - 5-гидроксииндолуксусная кислота, HVA – гомованиловая кислота. Df – степени свободы.

Показатели	Df	χ^2	p	Сравниваемые группы	ΔM	95% доверительный интервал	z. test	p
Тест незнакомого аквариума								
Дистанция, см	2,00	13,22	<0,01	Контроль – Флуоксетин	-28,33	[-269,06, 212,41]	-0,23	NS
				Контроль – ХНС	-400,19	[-640,93, -159,45]	-3,26	0,001
				Флуоксетин – ХНС	-371,86	[-612,60, -131,13]	-3,03	0,002
Время неподвижности, сек	2,00	2,95	NS					
Время наверху, сек	2,00	34,81	<0,01	Контроль – Флуоксетин	41,10	[-6,39, 88,59]	1,70	NS
				Контроль – ХНС	139,13	[91,64, 186,61]	5,74	< 0,001
				Флуоксетин – ХНС	98,03	[50,54, 145,51]	4,05	< 0,001
Число переходов на верх	2,00	2,74	NS					
Латентный период выхода на верх	2,00	17,99	<0,01	Контроль – Флуоксетин	-31,44	[-94,75, 31,88]	-0,97	NS
				Контроль – ХНС	-131,20	[-194,52, -67,89]	-4,06	< 0,001
				Флуоксетин – ХНС	-99,77	[-163,08, -36,45]	-3,09	0,002
Тест темно-светлого аквариума								
Время на свету, сек	2,00	0,41	NS					
Число переходов на свет	2,00	0,53	NS					
Тест на построение косяка								
Среднее расстояние между рыбами, см	2,00	10,02	0,01	Контроль – Флуоксетин	0,09	[-0,17, 0,34]	0,67	NS
				Контроль – ХНС	0,39	[0,14, 0,64]	3,01	0,003
				Флуоксетин – ХНС	0,30	[0,05, 0,56]	2,35	0,019
Расстояние до поверхности, см	2,00	3,39	NS					
Тест подвешивания за хвост								
Время активности, сек	2,00	0,40	NS					
Нейрохимические показатели								
Дофамин, пг/мг	2,00	0,76	NS					
Отношение DOPAC к дофамину	2,00	0,43	NS					
DOPAC, пг/мг	2,00	1,75	NS					
5-HIAA, пг/мг	2,00	17,69	<0,01	Контроль – Флуоксетин	0,84	[0,37, 1,30]	3,52	< ,0001
				Контроль – ХНС	-0,05	[-0,52, 0,41]	-0,23	NS
				Флуоксетин – ХНС	-0,89	[-1,35, -0,42]	-3,75	< 0,001
Отношение 5-HIAA к серотонину	2,00	10,82	<0,01	Контроль – Флуоксетин	0,89	[0,30, 1,47]	2,98	0,003
				Контроль – ХНС	0,27	[-0,38, 0,93]	0,82	NS
				Флуоксетин – ХНС	-0,62	[-1,15, -0,08]	-2,27	0,023
Серотонин, пг/мг	2,00	3,09	NS					
Отношение HVA к дофамину	2,00	3,58	NS					
HVA, пг/мг	2,00	3,21	NS					
Норэпинефрин, пг/мг	2,00	1,05	NS					

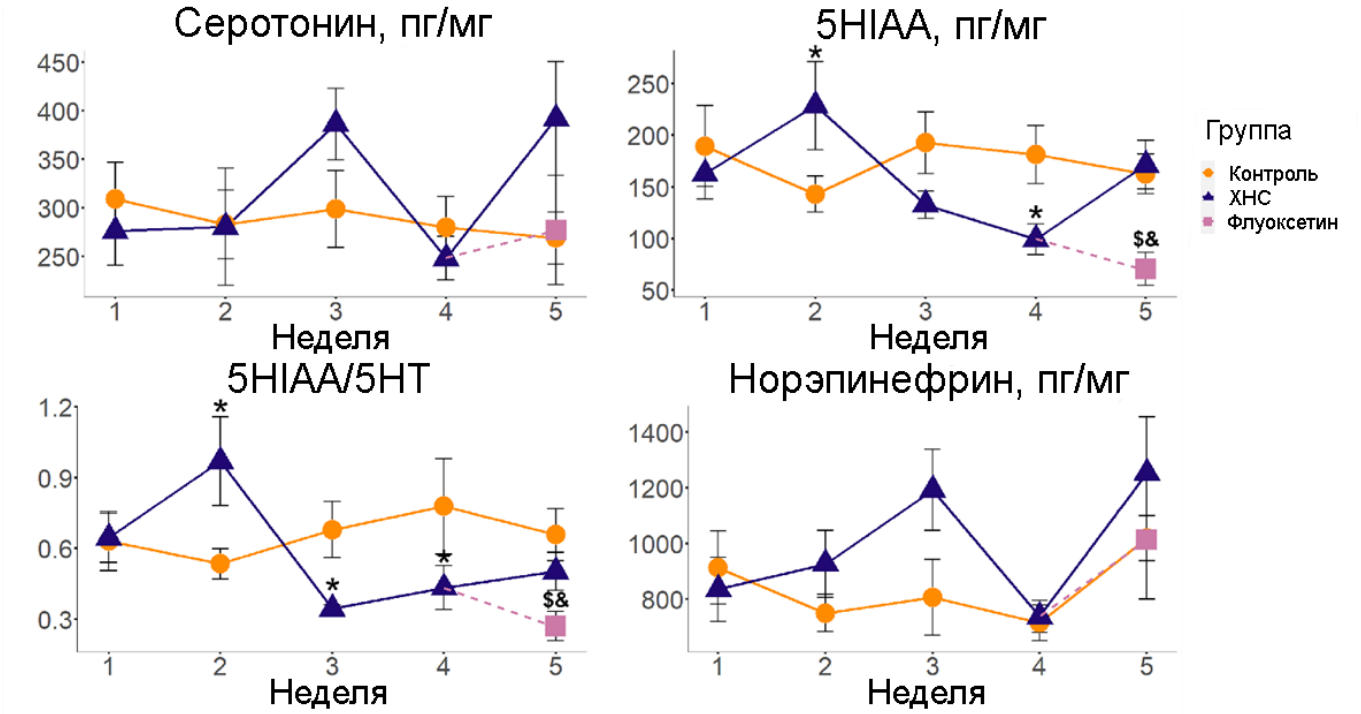

Рис. 9. Динамика нейрохимических изменений, вызванных ХНС и флуоксетином в образцах целого мозга *Danio rerio* [192]. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего (n=10), *p<0,05 стресс против контрольной группы (ОЛМ1), #p<0,05 стресс против контрольной группы (ОЛМ2), $p<0,05 флуоксетин против контрольной группы (ОЛМ2) пост-хок Туки тест для статистически значимых по тесту Валда (ANOVA тип II) отличий. См. также Таблицы А.1-А.5 в приложении для статистических деталей. 5-HIAA - 5-гидроксииндолеуксусная кислота

Анализ транскриптома методом РНК-секвенирования выявил 196 генов (130 снизивших и 66 повысивших свою экспрессию) дифференциально экспрессируемых в стрессируемой группе против контрольной группы (Рис. 10 и 11 и Таблица А.6 в приложении). Транскриптомное исследование выявило 196 генов, изменивших свою экспрессию (130 понизивших и 66 повысивших) в группе, подвергнутой стрессовым воздействиям относительно контрольной группы (Рис. 10 и 11 и Таблица А.6 в приложении), а также 49 генов (34 снизивших и 15 повысивших экспрессию) в группе флуоксетина против контрольной группы. 35 генов (25 снизивших и 10 повысивших экспрессию) были представлены одновременно в обоих анализах (у стрессированной и флуоксетиновой группы против контрольной группы), вероятно представляя собой гены ХНС, оказавшиеся устойчивыми к воздействию антидепрессантами (Рис. 10 и 11 и

Таблица А.6 в приложении). Также сравнение групп флуоксетина и контрольной группы выявило 18 генов изменивших свою экспрессию (3 снизивших и 15 повысивших экспрессию) из которых 9 (2 снизивших и 7 повысивших экспрессию) были обнаружены как дифференциально экспрессируемые (но в противоположную сторону) в анализе стрессорной группы против контрольной группы, вероятно представляя собой набор генов, чья экспрессия была нарушена в результате воздействия ХНС и полностью восстановлена после воздействия антидепрессантом.

Анализ обогащения по функциональной принадлежности (GSEA) (Таблица А.7 в приложении) выявил 87 путей в базе Gene Ontology (GO) и 10 путей в базе Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) дифференциально экспрессируемые в группе ХНС в сравнении с контрольной группой, образовавших 13 ключевых GO и 8 KEGG наборов. В сравнении с контрольной группой, в группе, подвергнувшейся воздействию флуоксетина, было выявлено 68 GO и 6 KEGG путей, группируемых в 9 GO и 5 KEGG наборов. Анализ GSEA группы, получившей воздействие флуоксетина против группы ХНС выявил 19 GO и 3 KEGG путей, группирующихся в 7 и 3 наборов соответственно. Анализ графов, направленный на выявление потенциально важных в качестве терапевтических мишеней белков и генов, определил ключевые вершины молекулярных сетей, такие как *tpm4b, isg15, stat1b, mov10b.1, CABZ01073795.1, mxa* и др., в модели ХНС и при воздействии на рыб флуоксетина (Рис. 10 и 11, Таблица 9 и Таблица А.6 в приложении).

В заключение, как показано на Рис. 12 анализ методом ПЦР в реальном времени подтвердил результаты РНК-секвенирования, сообщенные раннее (Рис. 12, Таблица А.8 в приложении). Так, *isg15* статистически значимо снизил экспрессию как в группе стресса, так и в группе флуоксетина, против контрольной группы, экспрессия *tpm4b* была увеличена у ХНС группы в сравнении с контрольной группой, экспрессия *saga* была снижена у ХНС группы против группы флуоксетина, а *otx5* был снижен у группы ХНС против двух других групп (Рис. 12, Таблица А.8 в приложении).

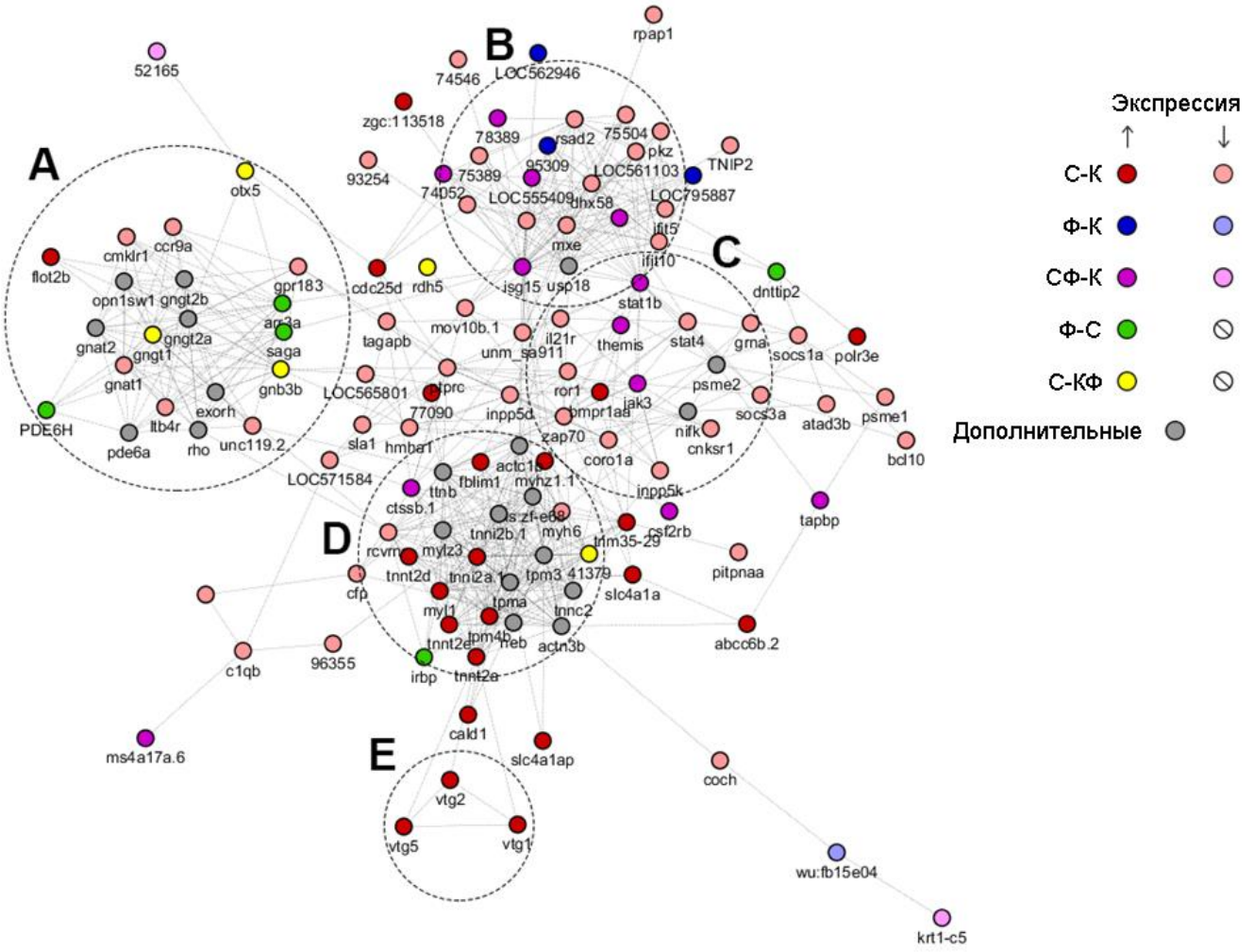

Рис. 10. Сеть протеин-протеин взаимодействий всех дифференциально экспрессируемых в исследовании генов, сконструированная при помощи базы данных STRING [192, 317]. Гены с номерами в названии соответствуют последним 5 числам в “ENSDARG000000*”, номера гена по Ensembl. С-К – ХНС против контрольной группы, Ф-К флуоксетин против контрольной группы, СФ-К – дифференциально экспрессируемые в С-К и Ф-К (в одну и туже сторону), Ф-С – флуоксетин против стресса, С-КФ – дифференциально экспрессируемые в С-К и Ф-С (в противоположные стороны, цвет по направлению Ф-С), Дополнительные – 20 протеинов с наибольшим рангом взаимодействия по STRING. Латинскими буквами выделены основные кластеры генов; A – аррестины и GPCR связанные гены, B – убиквитин-связанные гены и их воспалительные модификаторы, C – транскрипционные факторы, связанные с воспалением, D – цитоскелетные белки и белки связанные с подвижностью, E – вителлогенины

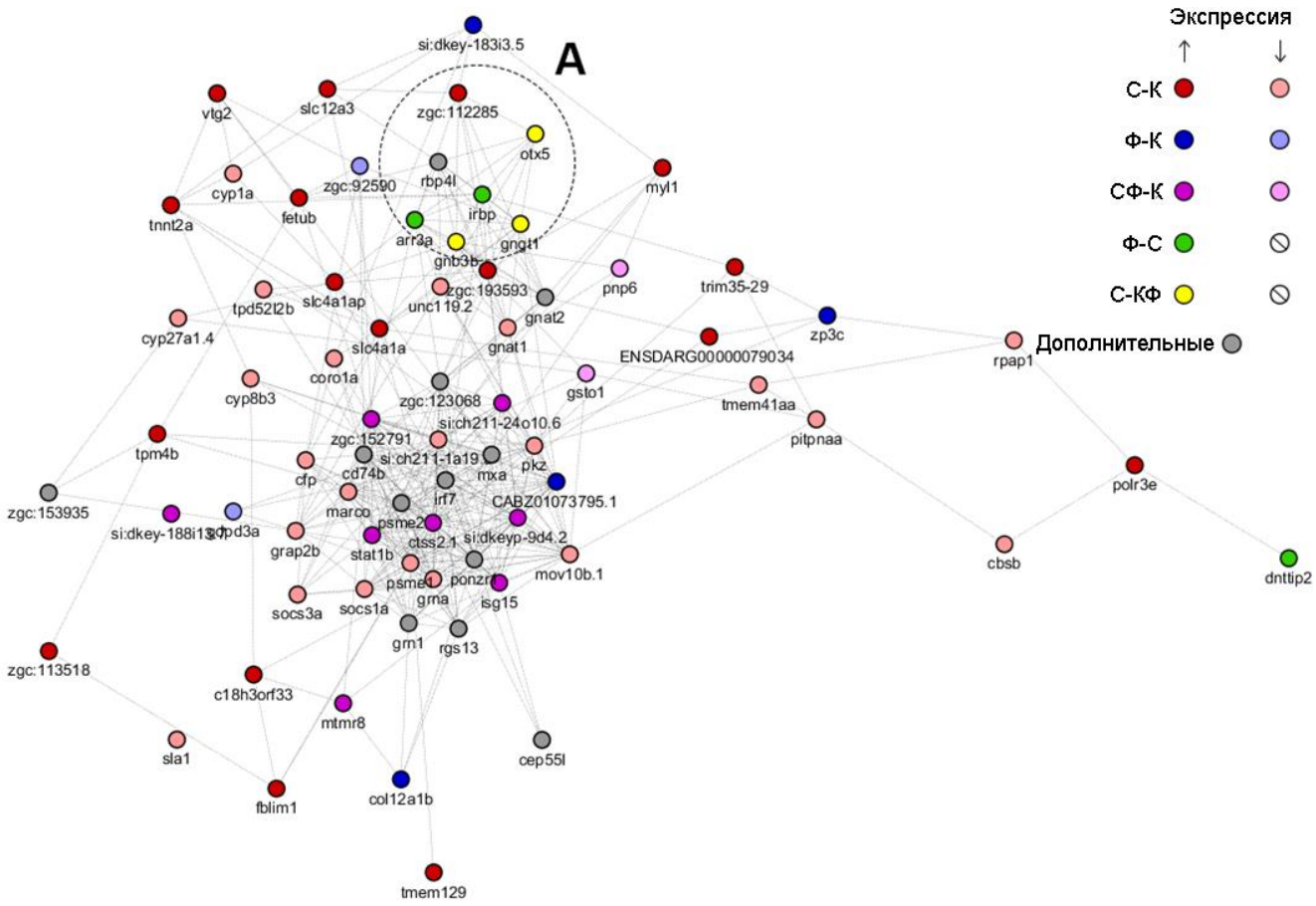

Рис. 11. Сеть коэкспрессии всех дифференциально экспрессируемых в исследовании генов, сконструированная при помощи базы данных GeneMania [192, 322-324]. С-К – ХНС против контрольной группы, Ф-К флуоксетин против контрольной группы, СФ-К – дифференциально экспрессируемые в С-К и Ф-К (в одну и туже сторону), Ф-С – флуоксетин против стресса, С-КФ – дифференциально экспрессируемые в С-К и Ф-С (в противоположные стороны, цвет по направлению Ф-С), Дополнительные – 20 генов с наибольшим рангом коэкспрессии по GeneMania. А – коэкспрессируемые гены из сравнения флуоксетина против ХНС.

Таблица 9. 10 вершин с наибольшими значениями показателей теории графов по DMNC || MNC, степени (degree) и узкому месту (bottleneck, см. секцию методы для деталей расчетов) для сконструированных молекулярных сетей протеин-протеин взаимодействий (PPI; база данных String) и сетей коэкспрессии генов (GE; база данных Gene Mania), см. также секцию методы и Рис.10-11 для дополнительной информации по сконструированным сетям [192].

Название	**DMNC**	**MNC**	**Название**	**Степень**	**Название**	**Узкое место**
STRING (PPI)						
tpm4b	0,81	23	isg15	32	isg15	31
tnni2b.1	0,96	20	ttnb	29	actc1b	24
myh6	0,87	20	actc1b	28	ttnb	22
tnnc2	0,84	20	stat1b	26	saga	11
tnni2a.1	1,00	19	tpma	25	trim35-29	10
mylz3	0,88	19	tpm3	24	stat1b	9
ns:zf-e68	0,83	18	tpm4b	23	ENSDARG00000004953	9
neb	0,96	17	actn3b	23	myhz1.1	9
tnnt2a	0,98	16	myl1	21	ptprc	7
tnnt2d	0,94	15	usp18	21	arr3a	7
GeneMANIA (GE)						
mov10b.1	0,82	24	*CABZ01073795.1*	36	*mxa*	13
cd74b	0,78	24	*mxa*	28	*CABZ01073795.1*	11
stat1b	0,77	24	*isg15*	25	*si:ch211-1a19.3*	10
si:dkeyp-9d4.2	0,75	23	*stat1b*	25	*slc4a1a*	10
ctss2.1	0,73	23	*si:ch211-1a19.3*	25	*irbp*	7
isg15	0,91	22	*irf7*	24	*cd74b*	6
ponzr1	0,90	22	*psme2*	24	*irf7*	5
psme2	0,86	22	*mov10b.1*	24	*ctss2.1*	5
zgc:152791	0,75	22	*cd74b*	24	*si:ch211-24o10.6*	5
irf7	0,91	21	*si:dkeyp-9d4.2*	24	*grap2b*	5

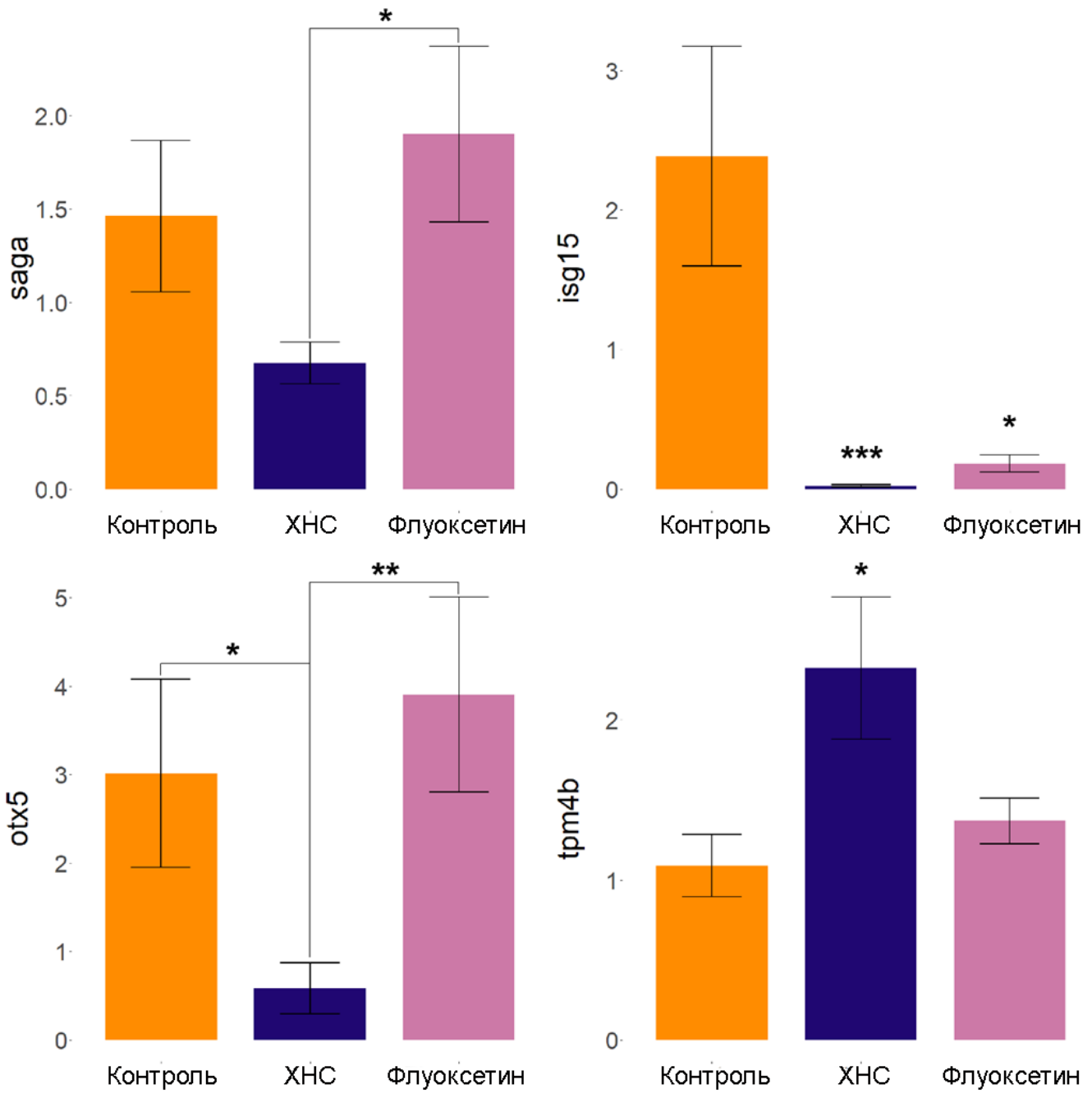

Рис. 12. Результаты количественной ПЦР в реальном времени образцов цельного мозга *Danio rerio*, подвергнутых ХНС или воздействию ХНС и флуоксетина [192]. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 между группами, соединенными соответственными линиями или относительно контрольной группы, по пост-хок тесту Данна для попарных сравнений статистически значимых по КУ данных (см. также Таблицу А.8).

2.3 Обсуждение

Глава 2 является первым исследованием, посвященным изучению динамики поведенческих и нейрохимических изменений, вызываемой моделью ХНС и ее фармакологической коррекцией при помощи воздействия хроническим флуоксетином, с использованием широкого набора тестов, связанных с тревогой, социальным поведением и поведением «отчаяния» у взрослых *Danio rerio*. Также было проведено изучение транскриптомных изменений в 5-недельном ХНС, определены основные нарушения в молекулярных сетях дифференциально экспрессируемых генов, а также их коррекция после воздействия антидепрессантом.

Поведенческие результаты Главы 2 могут быть просуммированы следующим образом: ХНС приводит к возникновению выраженной тревожности (снижению исследования поверхности воды), что является наиболее стабильным поведенческим эффектом на протяжении тестирования (Рис. 8, Таблица 7, Таблицы А.1-А.4 в приложении). В тоже время тест ТСА был нечувствителен к тревожным изменениям поведения на 4-5 неделях, что может говорить о его меньшей чувствительности, относительно ТНА, описанной раннее [173, 186]. В тесте ТПХ, активность была снижена на 1-ой неделе, но увеличена на 3-ей неделе и осталась неизменной на остальных неделях (Рис.8 Таблица 7, Таблицы А.1-А.4 в приложении), что предполагает сложное взаимодействие между ХНС, поведением «отчаяния» и тревожным поведением у *Danio rerio*, что аналогично наблюдаемой вариабельности поведения «отчаяния» у грызунов [117, 119, 121, 122]. Также было отмечено, что косяки стрессированных рыб обладали большой плотностью (выраженной в среднем расстоянии между рыбами), что соответствует наблюдаемому в ТНА тревожному фенотипу и сообщалось раннее в других стрессорных моделях [143, 158, 164, 171, 186].

Хроническое воздействие флуоксетином обратило большую часть наблюдаемых поведенческих фенотипов ХНС, что указывает на его противотревожный и антидепрессантный

эффект, наблюдаемый в клинических исследованиях и исследованиях грызунов (Рис. 8, Таблица 8, Таблица А.5 в приложении). Следует отметить, что наблюдались серьезные отличия в поведении контрольных рыб с течением времени (Рис. 8), что вероятно связано с внешними средовыми факторами, находящимися вне контроля исследователя, например атмосферным давлением, которые, однако, должны были оказать одинаковое воздействие на контрольную и экспериментальные группы. Данные изменения находятся в одной линии с дневной изменчивостью поведения *Danio rerio* о которой сообщалось раннее [218, 229, 325], подчеркивая таким образом валидность данной работы.

Нейрохимический анализ (Рис. 8, Таблицы 7,8) указывает на роль серотонергической системы в ХНС *Danio rerio*, что является схожим с серотонергическими эффектами ХНС грызунов [40, 45, 46] и ролью серотонина в аффективных патологиях человека [326-329], что предполагает возможность наличия эволюционно-консервативных серотонергических механизмов хронического стресса у позвоночных. В данной работе было обнаружено снижение уровня метаболита серотонина 5-HIAA и отношения 5-HIAA к серотонину на 3-5 неделях, а также их увеличение на 2-ой неделе. Отношение 5-HIAA к серотонину является распространенным биомаркером серотонергической активности в ЦНС, отражающее активацию серотонергических нейронов, выброс серотонина из пресинаптической щели и его последующий метаболизм [330, 331]. Интересно, что данные хорошо соответствуют снижению уровня 5-HIAA на 15-ый день ХНС, сообщавшемся раннее [332]. Таким образом, снижение 5-HIAA и отношения 5-HIAA к серотонину, возникающие, начиная со второй недели моделирования ХНС, являются важным наблюдением, которое говорит о том, что более короткие модели (например, 1-недельные), могут быть недостаточны для моделирования необходимых патологических изменений в серотонергической системе.

Подобно транскриптомному исследованию, выполненному в данной работе, нейрохимическое исследование использовало цельные образцы мозга (а не конкретные зоны

мозга), что может представлять собой менее чувствительный подход для изучения изменений в данных системах, что подчеркивает необходимость дальнейших зональных исследований изменений при ХНС.

Многие исследования ХНС на *Danio rerio* показали увеличение тревожности вследствие применения 2-недельного или более длительного протокола [145, 158, 163, 164, 332], аналогично данной работе. Однако, некоторые исследователи не наблюдали развития тревожного фенотипа [333], поднимая вопрос о правильном использовании методики в данных работах (см. также [223] для обсуждения вопроса воспроизводимости и надежности данных в моделях *Danio rerio*). Таким образом, необходимы дальнейшие исследования, сравнивающие эффективность различных ХНС протоколов, которые бы отличались, например по числу стрессоров, их выраженности и продолжительности.

Транскриптомный анализ, произведенный в данной Главе с использованием нескольких методик, выявил крупные изменения в экспрессии генов, связанные с воздействием ХНС и антидепрессантом (Рис. 10-11, Таблица А.6 в приложении). Обобщая результаты анализа, ХНС вызвал выраженные изменения в экспрессии генов цельного мозга *Danio rerio*, изменив экспрессию генов связанных с путями воспаления и цитокинами, сигнальными путями митоген-активируемой протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase, MAPK) и рецепторных тирозинкиназ, таких как белок переносчик сигнала и активатор транскрипции (*stat*) *1b* и *4*, рецептор интерлейкина 21 (*il21r*), *rsad2* (radical S-adenosyl methionine domain-containing protein 2), янус-киназа 3 (*jak3*), зета-цепочка-ассоциированная протеин киназа 70 (*zap70*), супрессор цитокиновой передачи информации (*socs*) *1a* и *3a*, орфанный рецептор к тирозин-протеин киназе (*ror1*), тимоцит-экспрессируемая-молекула (*themis*), и изменив соответствующие пути/наборы генов (GO:0004713 protein tyrosine kinase activity; dre04010 MAPK signaling pathway; Рис. 10-11, Таблицы А.6-7 в приложении). Аналогично прошлым исследованиям, были обнаружены изменения в генах и наборах генов, связанных с IFI6/IFI27 [333].

Более того, ХНС привел к увеличению экспрессии цитоскелетных генов и генов связанных с подвижностью клеток, таких как миозины (легкая цепь 1 и тяжелый полипептид 1.1 и 6) и тропонины (T2a, T2d и 2a.1), также нарушая экспрессию генов, связанных с активностью убиквитина, например, интерферон-стимулируемого гена 15 (*isg15*; убиквитин-подобный модификатор), убиквитин Е3 лигаз (*si:dkey-40c23.2*) и других связанных генов (*zgc:163136* убиквитин-протеин трансфераза; Рис. 10-11, Таблица А.6 в приложении). Что важно, данные убиквитин-связанные гены тесно взаимодействуют с различными интерферон-связанными генами, а *isg15* взаимодействует и коэкспрессируется со множеством других генов, представляя собою самый выраженный хабовый ген в молекулярных сетях ХНС (Рис. 10-11). Стресс также снизил экспрессию набора генов *dre04744 Phototransduction* (см. далее), и нарушил экспрессию генов, связанных с эндокринной системой (особенно стероидных), увеличив, например экспрессию вителлогенинов *vtg1-2, 5* (см. далее). ХНС также оказал значительное влияние на пути связанные с функцией РНК, включая *GO:0006397 mRNA processing*, *GO:0003735 structural constituent of ribosome*, *dre03010 ribosome* и *dre03040 spliceosome and cell metabolism*, *GO:0009199 ribonucleoside triphosphate metabolism*, *dre01200 carbon metabolism*, *dre00010 glycolysis/gluconeogenesis* и *dre00983 drug metabolism/other enzymes*.

В противоположность, флуоксетин нормализовал экспрессию большей части генов, связанных с ХНС, сохранив дифференциальную экспрессию только 35 из 196 ХНС генов, которые в основном представляют из себя центральные воспалительные гены, связанные с активностью цитокинов, например *isg 15*, *stat1b*, *jak3* (Рис. 10-11, Таблица А.6 в приложении). Экспрессия большей части наборов генов также была восстановлена после воздействия флуоксетина, тогда как некоторые сохранили измененную экспрессию, например пути связанные с функцией РНК *dre03010 Ribosome*, *dre03040 spliceosome*, *GO:0034660 ncRNA metabolic process*, *GO:0003735 structural constituent of ribosome and metabolic pathways*, *dre01200 carbon metabolism*, *GO:0009144 purine nucleoside triphosphate metabolism*, *GO:0019752 carboxylic acid metabolism*

(Таблица А.7 в приложении). Более того, снизилась экспрессия *GO:0006955 immune response*, что возможно указывает на снижение экспрессии цитокин-связанных путей в *Danio rerio*, подвергнутых воздействию флуоксетина.

Для большего понимания эффектов флуоксетина на прерывание патогенеза ХНС, также были сравнены группы флуоксетина и ХНС. Было выявлено 18 дифференциально экспрессирумых генов, 9 из которых были раннее обнаружены в анализе ХНС против контрольной группы, таким образом подтверждая эффект нормализации экспрессии генов флуоксетином. Анализ сетей протеин-протеин взаимодействий показывает, что большая часть этих генов тесно взаимосвязанно и формируют подсеть, которая включает в себя гомолог ортодентикла 5 (*otx5*), аррестин 3a (*arr3a*), c-антиген (*saga*) и гены G-белок связанных рецепторов (GPCR; *gngt1*, *gnb3b* и *gpr183a*).

Воспаление считается важным фактором аффективного патогенеза [334-338]. Дополняя клинические данные, животные модели, связанные с воспалением, широко используются для моделирования аффективных патологий [25]. Раннее было показано, что 5-недельный протокол ХНС, использованный здесь, приводит к развитию изменений в уровнях воспалительных и противовоспалительных цитокинов, которые корректируются воздействием флуоксетина [163]. В данной работе ХНС также вызывал изменения в глобальной экспрессии генов мозга, связанных с воспалением, тогда как флуоксетин вернул большую часть данных изменений на уровень контрольной группы (Рис. 10-11, Таблица А.6 в приложении).

Роль половых гормонов, в особенности эстрогенов, в патогенезе депрессии широко обсуждается в научной литературе [339-342]. У рыб, вителлогенин выступает важным биомаркером эндокринных нарушений, который является особенно чувствительным к воздействию эстрогенов [343, 344]. Изменения в экспрессии вителлогенинов *vtg1*, *-2* и *-5*, а также повышение экспрессии in the *GO:0005179 hormone activity, GO:0000003 reproduction* и других

путей, указывает на наличие эндокринных нарушений у рыб, подвергнутых ХНС, на основании чего можно предположить наличие вклада эндокринных нарушений в развитие патогенеза.

Что интересно, ХНС также сильно (l2fc=8,4) увеличил экспрессию адгезивного GPCR G4b (*adgrg4b*), тогда как флуоксетин восстановил его экспрессию до уровня контрольной группы (Рис. 10-11, Таблица А.6 в приложении). Адгезивные GPCR (aGPCR) представляют собой малоизученную группу протеинов, которые участвуют как в клеточной адгезии, так и в передаче информации, выступая таким образом возможной мишенью для фармакологических воздействий [345]. Хотя физиологическая роль aGPCR остается плохо изученной, уже была показана роль некоторых из них в различных заболеваниях мозга [346]. Так, например, мыши с удаленным геном *Adgrb2* обладают сниженным депрессо-подобным поведением и увеличенной пролиферацией клеток в гиппокампе [347].

Аррестины – это небольшое семейство высокогомологичных протеинов-адаптеров, которые выступают регуляторами передачи информации через GPCR, поддерживая их интернализацию и направляя активацию по G-белок независимым (например, тирозин-киназа Src или MAPK-связанным) путям [348-350]. Изучение активности аррестинов является крайне важной задачей, так как большинство современных лигандов с разной эффективностью активируют G-белок или аррестин связанные пути [351]. Аррестины также являются интересной мишенью для лечения аффективных патологий [352], так как лейкоциты депрессивных пациентов имеют сниженную экспрессию бета-аррестина-1, тогда как воздействие антидепрессантами увеличивает его экспрессию как у крыс [353], так и у людей [354]. Более того, бета-аррестины могут модулировать активность серотонергической системы, включая активацию ERK1/2 рецепторами серотонина 2A (5-HT_{2A}) [355]. Также было показано, что серотонин и 2,5-диметокси-4-иодоамфетамин (2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine; DOI) вызывают у мышей поведение покачивания головой (признак галлюциногенно-подобного эффекта) при помощи различных механизмов (бета-аррестин-2 зависимого и независимого, соответственно),

что указывает на существование лиганд-зависимого выбора метода передачи информации через GPCR в серотонергической системе [355].

Также важно, что биологическая функция аррестинов зависит от их убиквитинирования и деубиквитинирования, которые определяют эффективность интернализации рецепторов, а также судьбу комплекса аррестин-рецептор и активируемые ими каскады [356]. Убиквитинирование также играет роль в активности антидепрессантов [357]. Так, например циталопрам, имипрамин, дезипрамин и моклобемид увеличивают экспрессию гена бета-аррестина-2 в С6 клетках глиомы крысы, но снижают уровень данного белка за счет быстрого убиквитинирования, которое способствует деградации белка в протеасомах [357]. В соответствии с данными наблюдениями, в работе была обнаружена измененная экспрессия генов и наборов генов связанных с активностью убиквитина и аррестинов (например *isg15, dre04744 Phototransduction*) в группе ХНС, с небольшим увеличением экспрессии двух аррестинов (*saga, arr3a)* и связанных с ними путей (*dre04744 phototransduction, GO:0007601 visual perception expression*) после воздействия флуоксетином (Рис. 10-11, Таблица А.6 в приложении). Что дальше подчеркивает роль аррестинов и механизмов их убиквитинирования в аффективном патогенезе и действии антидепрессантов, что имеет высокую трансляционную значимость для будущих исследований в данной области.

Подводя итоги, результаты показали, что ХНС вызывает сложные поведенческие и нейрохимические изменения, развивающиеся в динамике в течение 5-недельного моделирования. Хотя некоторые фенотипы, например тревожность в ТНА, остаются довольно стабильными на протяжении всего моделирования, другие, например поведение в ПК, поведение «отчаяния» в ТПХ и метаболизм серотонина, меняются с течением моделирования. Транскриптомный анализ выявил измененную экспрессию генов, связанных с воспалением, экспрессия которых была частично восстановлена после воздействия флуоксетином. Флуоксетин также эффективно восстановил большую часть поведенческих и нейрохимических отклонений,

дополнительно подтверждая таким образом валидность модели. Данная работа указывает на важный вклад нейровоспалительных процессов, структурных изменений нейрональных сетей (по средством белков цитоскелета и адгезии), а также регуляции передачи информации посредством GPCR при помощи аррестинов и убиквитинов в развитие стрессорно-аффективной патологии.

Глава 3 Трансляционный анализ транскриптома мозга при аффективном патогенезе у *Danio rerio*, крыс и человека

3.1 Методы животные и оборудование

56 крыс линии Вистар (самцы 1,5-2,5 месяцев) были получены из центра Питомника лабораторных животных, Центра Преклинических и Трансляционных Исследований (ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия). Перед тестированием крысы содержались в стандартных условиях (20–22°C, влажность 55%, еда и вода *ad libitum*, 12:12 ч. цикл день:ночь). Все крысы принадлежали к одной популяции и были случайным образом распределены в экспериментальные группы с использованием генератора случайных чисел (https://www.random.org/). Все экспериментальные манипуляции с крысами были одобрены этической комиссией Института Экспериментальной Медицины ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова (20-14ПЗ#V2). Все протестированные животные были включены в итоговые данные без исключений и все запланированные анализы представлены в данном исследовании.

Грызуны широко используются для моделирования патологических состояний ЦНС, в том числе стресс-индуцированных патологий, в связи с высокой гомологией ключевых механизмов стрессорного ответа между грызунами и человеком. Линия Вистар была выбрана в данной работе, как одна из наиболее изученных и широко используемая в биомедицинских исследованиях [358], а также потому что результаты, полученные с использованием данной модели, являются хорошо воспроизводимыми [358], повторяя в том числе и вариационную популяционную изменчивость, необходимую, для адекватного сравнения данных с клиническими. В данной работе были использованы только самцы, так как в исследованиях эффектов хронического стресса у крыс наблюдается выраженный половой эффект [359-361], а также в связи с высоким влиянием менструального цикла на поведение самок крыс [362], что могло бы негативно сказаться на результатах.

Хронический Непредсказуемый Стресс

Протокол моделирования хронического непредсказуемого стресса (ХНС) у *Danio rerio* описан в главе 2, а также представлен раннее в статьях [192]. Крысы подвергались воздействию протокола ХНС в течение 12 недель, ежедневно получая воздействия различными стрессорами [363, 364], в том числе стрессом скучиванья, незнакомыми объектами, мигающим светом, депривацией еды и воды, тряске, вынужденному плаванию, экспозицией новизной, сменой дня и ночи, представлением хищника, социальной изоляцией и депривацией сна (Таблицы А.9 и А.10 в приложении). Продолжительность стресса была выбрана исходя из прошлых исследований эффектов ХНС на грызунах [364].

Контрольные крысы содержались также как экспериментальная когорта, но оставались экспериментально наивной на протяжении всего исследования. На 57 день стрессируемая когорта также была разделена на группу, продолжающую получать воздействие стресса, и группу, которая, дополнительно к протоколу, получала воздействие антидепрессантом флуоксетином в заключительные 4 недели исследования в дозировке 5 мг/кг при помощи перорального введения 0,5 мл дистиллированной воды шприцом. Флуоксетин (Биоком, Ставрополь, Россия) является широко используемым антидепрессантом [269-271], часто применяемым в биомедицинских исследованиях и моделях, в том числе на грызунах [272-275]. Продолжительность воздействия антидепрессантом была выбрана исходя из результатов прошлых исследований моделей ХНС [161, 365]. Животные из всех групп тестировались в одинаковом количестве на протяжении двух дней. В каждый день животные тестировались в схожих условиях и были подвергнуты эвтаназии при помощи одной и той же процедуры.

Поведенческое тестирование

Краткое подтверждение развития аффективной патологии после воздействия протокола ХНС, а также потенциал фармакологической коррекции наблюдаемого фенотипа определялся в Приподнятом Крестообразном Лабиринте (ПКЛ). Перед тестированием крысы (n=17-20)

помещались на 2 ч в комнату для тестирования для акклиматизации и возвращались в комнату содержания непосредственно после тестирования. Тестирование проводилось с 10 до 17 ч и было записано при помощи экшн-камеры SJ4000 (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) на скорости 60 кадров в секунду. Поведенческое тестирование, а также статистический анализ и обработка видеоизображений проводились слепым методом. Аппарат ПКЛ [366] состоял из 4 серых рукавов, размещенных в форме креста (50 длина × 14 ширина, см) (OpenScience) помещенных на тележку высотой 55 см. Два «открытых» рукава имели края высотой в 1 см, а по краям «закрытых» рукавов располагались стенки высотой 30 см. Аппарат освещался лампами 65 вт, направленными на открытые рукава (400 люкс), тогда как освещение в комнате и закрытых рукавах было слабым (30 люкс). В рамках тестирования животные помещались в центральную часть ПКЛ (на пересечение) в направлении от экспериментатора. Поведение записывалось в течение 5 минут и далее анализировалось вручную при помощи программы RealTimer, с оценкой времени (сек) и частоты заходов в «открытые» и «закрытые» рукава [366].

Клинические данные

Данные транскриптома людей были получены из открытых источников [367], собранных Douglas Bell Canada Brain Bank (DBCBQ, Douglas Mental Health Institute, Verdun, Québec) и загруженных в NCBI BioProject под номером PRJNA398031. Субъекты (мужчины, n=3 для субикулума (основание гиппокампа), n=4 для префронтальной коры, средний возраст 45 лет) были Европейцами Французско-Канадского происхождения и умерли быстро, без длительной агонии [367]. Диагноз Большого Депрессивного Расстройства был поставлен с использованием критериев Диагностического и статистического руководства по психическим расстройствам-IV (Diagnoses were obtained using Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-IV; DSM-IV)) с использованием Структурированного Клинического Интервью для Расстройств Оси 1 DSM-IV (The Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders; SCID-I) [368], адаптированный для психологической аутопсии [367]. Оригинальное исследование [367] также включало множество

людей, покончивших жизнь суицидом, в контрольной группе (не диагностированными как депрессивные) и депрессивных людей, принимавших антидепрессанты, которые были исключены из данного in-silico анализа в связи с возможной ошибочной диагностикой и возможным влиянием антидепрессантов на транскриптом.

РНК-секвенирование

В эксперименте были использованы взрослые *Danio rerio* (n=6, отношение полов 1:1), а также самцы крыс линии Wistar (n=3), которые подверглись протоколу ХНС согласно методике в Главе 2 [192] и Главе 3 [193], соответственно. Процедуры РНК секвенирования выполнялись соответственно Главе 2 и опубликованным статьям [192, 193, 367]. Процедуры эвтаназии и забора тканей мозга *Danio rerio* описаны в Главе 2. Образцы мозга крыс собирались для транскриптомного анализа без объединения (1 мозг на образец) на следующий день после поведенческого тестирования с 9:00 до 19:00. Интервал в 1 день был выбран в данной работе для снижения возможных немедленных транскриптомных эффектов от поведенческого тестирования или манипуляций с животными [192]. Крысы для РНК-секвенирования были выбраны случайным образом, с использованием генератора случайных чисел (https://www.random.org/). Крысы были быстро эвтаназированы в камере для ингаляционной анестезии (SomnoSuite, Kent Scientific, Connecticut, USA) с использованием 5% изофлурана, а их мозги были извлечены на льду, с последующей диссекцией тканей гиппокампа согласно атласу Waxholm Space [369] и криоконсервированы в жидком азоте для дальнейшего анализа. Выделение РНК происходило при помощи тризола (Evrogen JSC, Moscow, Russia), в соответствии с инструкцией производителя. Качество РНК оценивалось с использованием Quantus (Promega Corporation, Madison, USA), электрофореза и QIAxcel (QIAGEN, Venlo, Netherlands). Секвенирование было выполнено на Illumina HiSeq2500 (Illumina Inc., San Diego, USA) с 140 пар нуклеотидов (пн) парными-прочтениями (*Danio rerio*) и Illumina HiSeq4000 с 151 пн парными-прочтениями (крысы), с не менее чем 20 млн прочтений, сгенерированных для каждого образца. В качестве

образцов мозга человека (из соответствующего исследования [367]) были использованы дорсолатеральная часть префронтальной коры (Зоны Бродмана 8/9; dlPFC) и вентральный субикулум\ (vSUB), которые были аккуратно извлечены при температуре 4 °C после криконсервации в изопептане на −80 °C квалифицированными патологоанатомами с использованием реферативных нейроанатомических карт [367, 370, 371]. Аналогично экспериментам с животным, выделение РНК происходило при помощи тризола, в соответствии с инструкцией производителя [367]. Образцы секвенировались на 50 пн парными-прочтениями на Illumina HiSeq2500 (Illumina Inc., San Diego, USA) с не менее чем 50 млн прочтений, сгенерированными на каждый образец после 2 последовательных процедур секвенирования [367].

Статистический анализ и обработка данных

В данной Главе для анализа поведенческих данных Приподнятого Крестообразного Лабиринта (ПКМ) были использованы обобщенные линейные модели (ОЛМ) аналогично [192]. ОЛМ является широко используемым методом статистического анализа [291-293], который позволяет данным иметь распределение, отличное от нормального, что позволяет использовать его для анализа как параметрических, так и непараметрических данных [290-292, 295, 296]. Для сравнения экспериментальных групп был выполнен дисперсионный анализ методом хи-квадрата Вальда (ANOVA, тип II) для полученных ОЛМ (Таблица А.11 в приложении) с пост-хок тестом Тьюки для попарных сравнений статистически значимых по тесту Вальда данных. Для того, чтобы учесть возможный эффект дня тестирования на модель, для создания ОЛМ были использованы фактор дня, группы и их взаимодействия. Однако, в дальнейшем, обсуждаются только результаты группового эффекта, в соответствии с задачами исследования. Для выбора оптимального распределения (степень соответствия, goodness of fit) ОЛМ и функции связи (link function), использованных для моделирования каждого изучаемого параметра, были определены уровни критерия информации Акаике (Akaike information criterion, AIC) [297, 298] для моделей с

использованием распределения Гаусса (тождественная связь, identity link), распределения Пуассона (логарифмическая связь, log link), Гамма-распределения (обратная и логарифмическая связь, inverse and log links) и Обратного Гамма-распределения (обратная и логарифмическая связь, inverse and log links), выбирая модель с наименьшим уровнем AIC (индикатор того, что модель наиболее вероятно является наиболее пригодной для анализа) [299], аналогично Главе 2 и [192]. Анализ ОЛМ, хи-квадрата Вальда и теста Туки происходил при помощи программы R [300], p-значение было установлено в <0,05 во всех данных тестах.

Данные РНК-секвенирования образцов субикулума и префронтальной коры человека были взяты из базы данных открытого доступа NCBI BioProject под номером PRJNA398031 [367]. Были использованы только образцы мозга мужчин, которые не принимали лекарственные средства, а также погибли от естественных причин или в результате случайности (но не суицида). Экспериментальная принадлежность образцов определялась на основании присутствия или отсутствия диагноза Большого Депрессивного Расстройства, поставленного методом психологической аутопсии (экспериментальная и контрольная группа соответственно), получив в итоге n=3 для образцов субикулума и n=4 для префронтальной коры. Прочтения были картрированы на геном *Danio rerio* GRCz11, крыс Rnor_6.0 и человека GRCh38 с использованием RNA STAR [302] и далее обработаны с использованием featureCounts [303] (usegalaxy.org [372]). Для межвидового сравнения данных транскриптома были использованы 4 разных подхода (обобщенных на Рис. 13), реализованные с использованием языка программирования R [300], пакетов Bioconductor [304] и DESeq2 [305]. Пакет для анализа дифференциальной экспрессии генов был выбран в данной работе как инструмент, эффективный для анализа экспериментов с менее чем 12 образцами и стабильный даже внутри порога кратности изменений в 0,5, а также потому что результаты данного подхода согласуются с другими популярными инструментами, такими как EdgeR, Limma и EBSeq [192, 306]. Все гены, сумма подсчетов (counts) которых составила менее 10 на все исследуемые в эксперименте образцы, были удалены из последующего

анализа. Анализ дифференциальной экспрессии генов был выполнен при помощи функции DESeq. Полученные p-значения были скорректированы с использованием поправки Бенжамини-Хочберга. P-значение и значение вероятности ложноположительного результата (false discovery rate; FDR) были установлены на значении 0,05 во всех данных анализах, если не указано обратное.

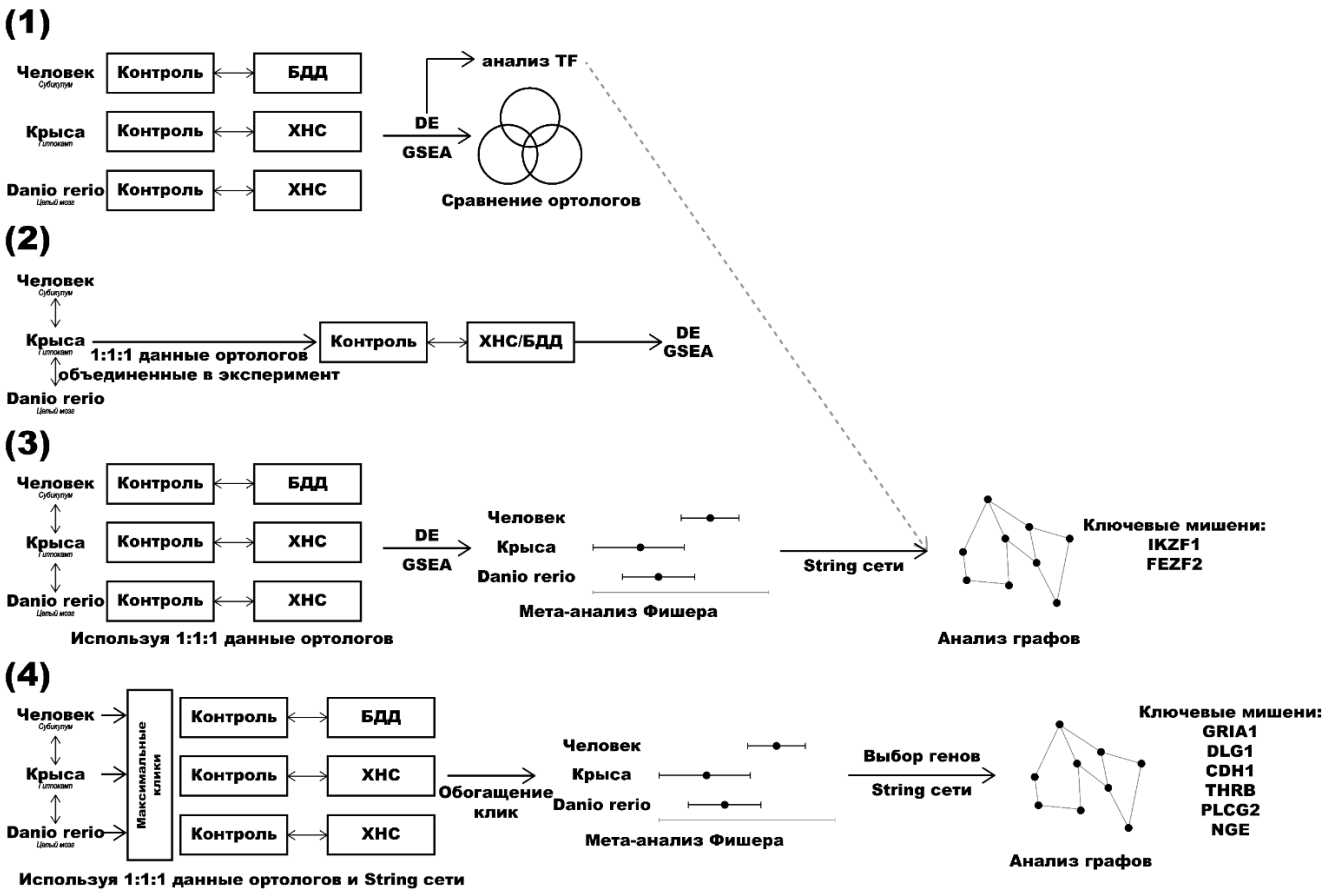

Рис. 13. Схема экспериментальных дизайнов, использованных в данной Главе [373].

Анализ обогащения по функциональной принадлежности (The Gene Set Enrichment Analysis; GSEA) широко используется для анализа экспрессии генов, объединенных в наборы, позволяя лучше определить некоторые изменения транскриптома [307-310]. Однако, классический GSEA обладает некоторыми ограничениями, включая невозможность сравнения групп разного размера и использования сложных дизайнов экспериментов [311]. Подтип GSEA -

общеприменимый анализ обогащения по функциональной принадлежности (the generally applicable gene set enrichment, GAGE), созданный для разрешения данных ограничений [311], также превосходящий в статистическом смысле классический метод [311]. Наборы генов из базы данных Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) были использованы для анализа обогащения на нормализованных и подвергнутых log2-трансформации подсчетов (counts) при помощи пакета GAGE [311], с использованием двухвыборочного т-теста Стьюдента для сравнения групп на предмет дифференциальной экспрессии наборов генов. В различных экспериментах использованы как положительно, так и отрицательно регулируемые, а также двунаправленно регулируемые (в абсолютном отношении экспрессии) наборы с коэффициентом ложного обнаружения (False Discovery Rate, FDR) установленном на уровне 0,05.

В Эксперименте 1 сравнивались списки дифференциально экспрессируемых генов и обогащенных наборов генов, полученные для каждого вида в отдельных анализах. Подсчеты (counts), полученные в результате картрирования на геномы GRCz11 (n=6), Rnor_6.0 (n=3) и GRCh38 (n=3), были проанализированы независимо, с использованием функций DESeq2 и GAGE, сравнивая ХНС или БДР группы по отношению к соответствующим контрольным группам (FDR < 0,05, Рис. 13). Полученные списки дифференциально экспрессируемых для каждого вида генов далее сопоставлялись диаграммой Венна между видами, с использованием ортологов генов, полученных функцией HomoloGene в R [374]. Списки полученных обогащенных наборов также сопоставлялись при помощи названий наборов в KEGG. Дополнительно была проанализирована представленность ДНК сайтов для связывания транскрипционных факторов (ТФ) в генах высокой изменчивости (p значения <0,01 по DESeq2) относительно низкой изменчивости (p>0,7) с использованием программы CiiiDer TFMs для каждого вида [375] (только ТФ с p<0,05 для статистической значимости покрытия гена и числа распределения сайтов связывания одновременно считались статистически значимыми).

Полученные списки дифференциально представленных ТФ также были сопоставлены между видами.

В Эксперименте 2 было выполнено межвидовое сравнение стрессорных групп (ХНС/БДР) против контрольных групп в объединенной форме, используя прочтения, которые были картрированы на гены-ортологи человека до дифференциального анализа (Рис. 13). Подход был предложен на основании того, что гипотезы в предложенных экспериментах являются тесно взаимосвязанными между собой (рассматривают эффекты аффективной патологии на транскриптом мозга позвоночных животных), что обеспечивает возможность комбинации данных РНК-секвенирования в единый эксперимент, который рассматривает влияние аффективной патологии на транскриптом общих генов-ортологов (на основе генов человека) у позвоночных. Все подсчеты (counts) были картрированы 1:1:1 к генам-ортологам человека с использованием HomoloGene. В результате был получен список из 10353 генов, общих между *Danio rerio,* крысами и человеком, состоявший из 24 образцов (n=12), которые затем сравнивались как единая ХНС и БДР группа против единой контрольной группы, с использованием DESeq2 и GAGE (FDR <0,05).

В Эксперименте 3 было проведено межвидовое сравнение эффектов ХНС (или БДР) с контрольными образцами, используя для анализов только подсчеты (counts), картрированные на гены-ортологи человека, которые были проанализированы методами дифференциальной экспрессии генов и GSEA в отдельных для каждого вида экспериментах, и далее сопоставлялись между видами при помощи мета-аналитического подхода (Рис. 13). Возможность использования такого подхода также была связана со схожестью гипотез в отдельных экспериментах между собой (рассматривают эффекты аффективной патологии на транскриптом мозга позвоночных животных), что дает возможность использовать мета-аналитические методы. Аналогично подходу в Эксперименте 2, подсчеты (counts) были картрированы 1:1:1 на гены-ортологи человека, а затем проанализированы с использованием DESEq2 для каждого вида в отдельности.

Далее 3 получившихся индивидуальных видовых результата анализа DESEq2 были проанализированы с использованием метода мета-анализа Фишера [376] и пакета metaRNASeq в R [377]. Статистически значимо измененные по тесту Фишера гены (FDR <0,05), были в последствии отобраны, исходя из однонаправленности изменений экспрессии генов в экспериментальных группах относительно контрольных во всех трех видах. Дизайн данного эксперимента хорошо воспроизводит другие недавние исследования, посвященные мета-анализу результатов РНК-секвенирования у близкородственных видов (например исследование транскриптома микроводорослей *Dunaliella* [378]). В рамках Эксперимента 3 также была создана сеть протеин-протеин взаимодействий (PPI) с использованием базы данных STRING для *Homo Sapiens* [317]. Сеть PPI была построена из ТФ, полученных в Эксперименте 1 и дифференциально экспрессируемых по результатам мета-анализа генов из Эксперимента 3. В результате была получена сеть, состоявшая из 67 вершин. Для конструирования сети в STRING был установлен минимальный уровень взаимодействия в 0,15 и были использованы все виды взаимодействия, за исключением поиска по тексту. Полученная PPI была далее обработана с помощью программ для работы с графами CytoScape [379] и пакета CytoHubba [318] для определения генов-хабов (hub-genes) с использованием таких показателей как степень (degree), бутылочное горлышко (bottleneck), посредничество (betweenness) и DMNC||MNC (см. Анализ Графов). Среди 10 протеинов и ТФ, получивших наилучшую оценку по данным показателям, были исключены те, которые имели разнонаправленные изменения экспрессий между видами для определения генов-хабов с эволюционно консервативным профилем экспрессии.

В Эксперименте 4 было выполнено межвидовое сравнение ХНС (и БДР) групп против контрольных групп, исследуя обогащение Максимальных Клик (МК) в сети протеин-протеин взаимодействий (PPI) с использованием баз данных OmicsNet [380] и STRING [317], построенной на основе подсчетов (counts), картрированных на гены-ортологи человека (сеть состоящая из 7933 протеинов; Рис. 13), в разных для каждого вида экспериментах, которые затем сравнивались

с использованием мета-аналитических методов. В получившейся сети PPI, используя программу Cytoscape и плагин MClique [379], были определены 121219 МК, из которых большей частью являлись клики, состоявшие из рибосомальных протеинов (рибосомальные клики идентифицировались как клики, содержащие гены S или L рибосомальных протеинов (*RPS* или *RPL*)), анализ которых не являлся целью данного исследования, поэтому они были исключены из списка. Дальнейший анализ происходил на оставшихся нерибосомальных 21938 МК (Рис. 14). Данные МК анализировали как наборы генов с использованием GAGE для каждого вида, сравнивая обогащенность наборов (в абсолютном выражении) данных МК в ХНС (или БДР) против контрольных групп. Анализ данных МК в транскриптомных исследованиях также является новым методом, активно набирающим популярность [381-384]. Получившиеся обогащенные МК далее сравнивались между видами с использованием мета-аналитического подхода для определения МК с консервативной экспрессией между данными видами, аналогично дифференциально экспрессируемым генам и обогащенным наборам генов из Эксперимента 3. Из всех статистически значимо измененных в мета-анализе МК был собран новый набор генов (содержавший 253 гена) и, в качестве пилотного доказательства концепции, было исследовано обогащение данного набора генов с использованием GAGE на оригинальных данных, а также дополнительно на данных префронтальной коры людей с БДР, гиппокампа ХНС крыс после дополнительного воздействия флуоксетином в течение 4 недель (см. раздел Хронический Непредсказуемый Стресс), а также цельного мозга ХНС *Danio rerio*, также подвергнутых воздействию флуоксетина в течение 1 недели (см. Главу 2).

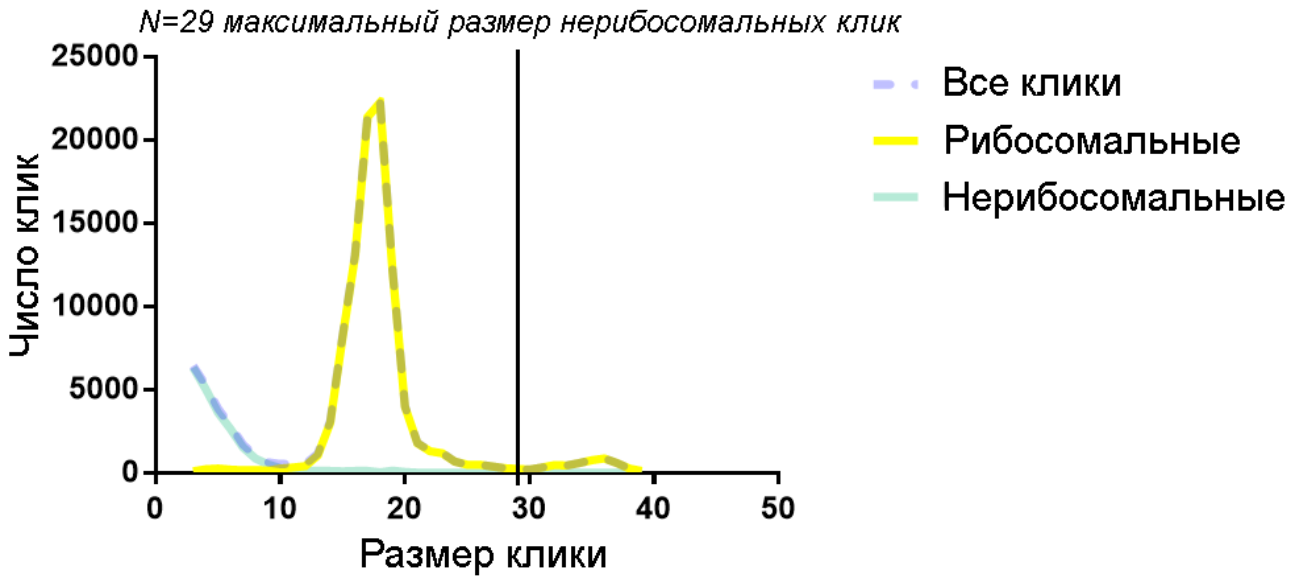

Рис. 14. Число максимальных клик, обнаруженных в сети, созданной из ортологов генов 1:1:1 человек:крыса:*Danio rerio* с использованием HomoloGene, баз данных STRING и OmicsNet [373].

Для дальнейшей обработки были исключены гены с различной направленностью изменений в оригинальных экспериментальных группах относительно контрольных групп. Далее была построена сеть протеин-протеин взаимодействий из оставшихся генов (45 протеинов) и было использовано два подхода для определения ключевых протеинов, ответственных за патологию в данной сети. Первый подход использовал технологию анализа графов из Эксперимента 3, определяя степень (degree), бутылочное горлышко (bottleneck), посредничество (betweenness) и DMNC||MNC (см. Анализ Графов) вершин. Второй подход использовал ранжирование экспрессии генов по степени изменения по логарифму двойки, отбирая 10 генов с наибольшей и наименьшей экспрессией в экспериментальных группах относительно соответственных контрольных групп, и сопоставляя затем получившиеся списки. Таким образом, было обнаружено 6 генов, которые стабильно и высоко изменяли свою экспрессию у всех трех видов. Далее аналогичным образом исследовались эффекты флуоксетина в ХНС крыс и *Danio rerio*. Было обнаружено, что 5 из этих генов изменили экспрессию в противоположную

(относительно ХНС) сторону после воздействия флуоксетина, таким образом подтверждая наблюдения.

Данные обрабатывались онлайн и оффлайн экспериментатором, осведомленным о групповой принадлежности, так как все животные и образцы были включены в анализы, а статистическая обработка данных происходила беспристрастно и автоматически, а экспериментатор не имел возможности повлиять на результаты эксперимента. Экспериментальный дизайн, а также его описание, анализ и презентация данных полностью соответствуют методическим рекомендациям Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE) и Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence (PREPARE) для планирования, проведения и сообщения об исследованиях с животными.

Анализ графов

Анализ графов сетей протеин-протеин взаимодействий (PPI) с использованием данных генной экспресии был выполнен с использованием программы Cytoscape для анализа биологических молекулярных сетей взаимодействий версии 3.8.0 [379]. Сами сети были сгенерированы с использованием базы данных STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) [317] (https://string-db.org). Далее сети анализировались в программе Cytoscape при помощи приложения cytoHubba [318] для определения ключевых вершин (хабов), определив 10 вершин с наибольшим значением степени (degree), бутылочного горлышка (bottleneck), посредничества (betweenness) или с использованием оценки методом схемы двойного скрининга (Double Screening Scheme (DSS)), сочетающей плотность компонента максимального соседства (Density of Maximum Neighborhood Component (DMNC)) и компонент максимального соседства (Maximum Neighborhood Component (MNC)) аналогично Главе 2 и [192]. Степень вершины (node, протеина) v была определена как число ребер вершина v, т.е. представляла собою число взаимосвязей протеина с другими протеинами. Узкое место вершины было определено,

используя степень посредничества (betweenness centrality) вершины, основываясь на расчете числа наиболее коротких путей между вершину, проходящих через данную вершину [319]. Протеины, выступающие узким местом, вероятно являются важными в сети, представляя собой мосты для взаимодействия между другими протеинами [320]. MNC вершины (node, протеина) *v* был определен как размер максимального компонента подсети *N(v)*, сконструированной вершинами смежными с *v*. DMNC вершины (node, протеина) *v* был определен как E/N^{ε}, где *N* – число вершин и *E* – число граней MNC*(v)*, а ε=1,7. DSS был далее высчитан следующим образом: для *n* наиболее существенных протеинов, ожидающихся на выходе (*n* – эмпирическая величина), *2n* протеинов были отобраны при помощи DMNC (выбирая протеины с максимальным значением DMNC). Данные протеины были ранжированы по значению MNC и *n* протеинов с верхним значением были отобраны в качестве результирующих. Метод DSS (DMNC || MNC) показал себя эффективным для определения важные протеинов в сетях PPI [321].

3.2 Результаты

В тесте Приподнятого Крестообразного Лабиринта протокол ХНС приводил к развитию выраженного тревожного фенотипа, таким образом, подтверждая успешное моделирование аффективной патологии (Рис.15, Таблицы А.11-А.13 в приложении). Было обнаружено, что ХНС приводит к снижению времени, проводимого в открытом рукаве, а также снижению частоты переходов в «закрытые» и «открытые» рукава ($p<0,05$, Туки-тест для значимых по ANOVA данных, на основе обобщенной линейной модели (ОЛМ); Рис. 15, Таблицы А.11-А.13 в приложении). В тоже время, группа, получившая воздействие флуоксетина, не имела статистически значимых отличий от контрольной группы по данным показателям ($p>0,05$) и статистически значимо больше времени провела в «открытых» рукавах и чаще заходила в них, чем группа ХНС ($p<0,05$; Рис. 15, Таблицы А.11-А.13 в приложении). Не было обнаружено статистически значимых отличий по другим показателям, связанных с параметром группа, в ОЛМ ($p>0,05$; Рис. 15, Таблицы А.11-А.13 в приложении).

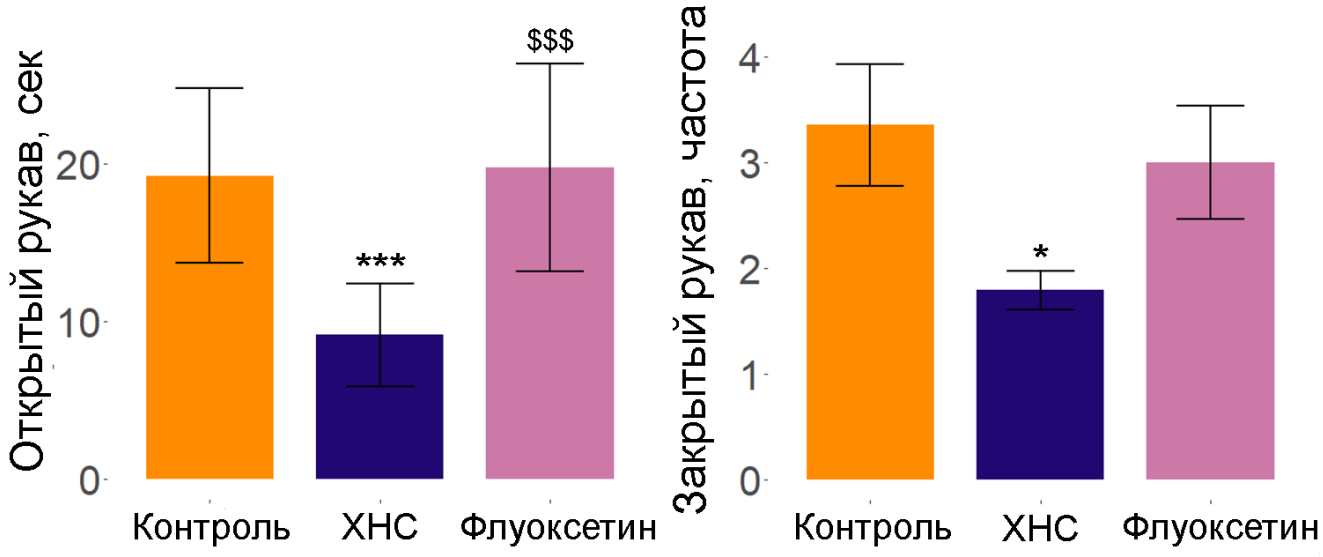

Рис. 15. Поведенческие эффекты, вызванные протоколом Хронического Непредсказуемого Стресса (ХНС, 12 недель) у крыс, а также после воздействия антидепрессантом флуоксетином в течение последних 4 недель моделирования ХНС в Приподнятом Крестообразном Лабиринте [373]. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего (n=17-20). *p<0,05, ***p<0,001 против контрольной группы, $$$p<0,001 против группы ХНС по пост-хок тесту Туки для попарных сравнений статистически значимых по тесту хи-квадрата (χ^2) Валда (ANOVA тип II) для данных ОЛМ.

В Эксперименте 1 был проведен анализ эволюционно-консервативных отклонений транскриптома в аффективной патологии человека, крыс и *Danio rerio*, в котором использовалось классическое сопоставление списков дифференциально экспрессируемых генов и обогащенных наборов с использованием диаграмм Венна. Было определено 25 дифференциально экспрессируемых генов для субикулума людей с БДР, 47 генов для гиппокампа ХНС крыс и 196 генов для цельномозговых образцов ХНС *Danio rerio* (Рис. 16, Таблицы А.6, А.14-15 в приложении). Не было обнаружено генов-ортологов (найденных при помощи базы данных HomoloGene), которые были бы дифференциально экспрессируемыми у всех трех видов одновременно (Рис. 16, Таблицы А.6, А.14-15 в приложении). Общеприменимый анализ

обогащения по функциональной принадлежности (GAGE) определил 56 обогащенных наборов генов у человека, 69 наборов у крыс и 32 у *Danio rerio* (Рис. 16, Таблицы А.16-18 в приложении).

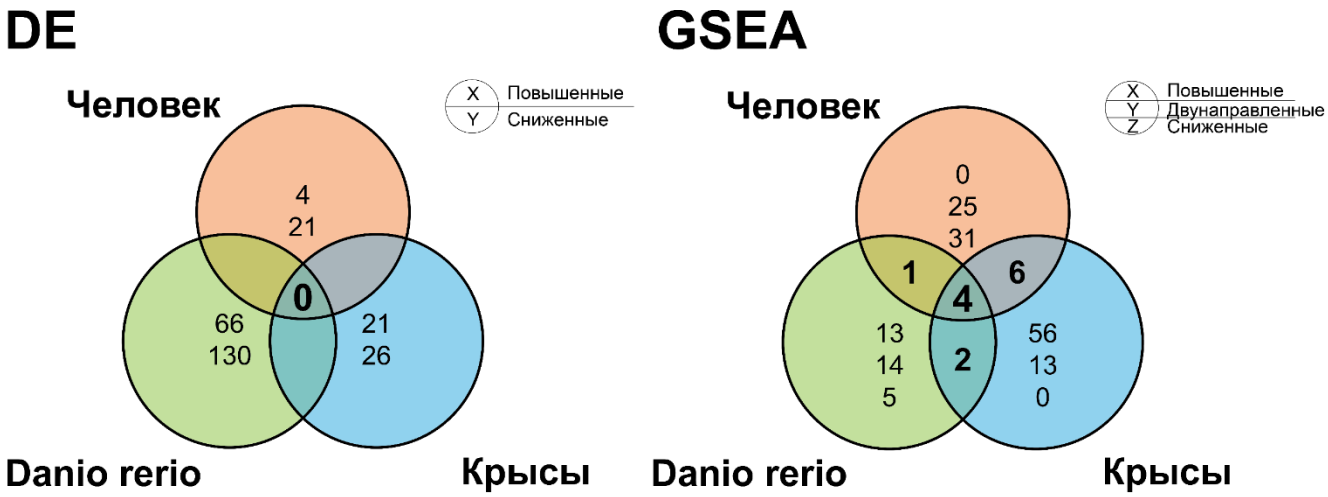

Рис. 16. Диаграммы Венна, на которых изображено число дифференциально экспрессируемых генов (DE) и обогащенных наборов генов (GSEA) в данных РНК-секвенирования. Сопоставляются генная экспрессия в субикулуме людей с диагнозом Большое Депрессивное Расстройство со здоровыми людьми, экспрессия в гиппокампе крыс, подвергнутых Хроническому Непредсказуемому Стрессу (ХНС) с контрольной группой или экспрессия целого мозга *Danio rerio*, подвергнутых ХНС с контрольной группой. Для сопоставления использовались 1:1:1 гены-ортологи, взятые из HomoloGene (Эксперимент 1, см. также раздел Методы) [373]. Не было обнаружено общих DE и только несколько общих обогащенных наборов.

Несколько путей были значимо обогащены у всех трех видов – кальциевая передача информации (*calcium signaling*), взаимодействие внеклеточного матрикса и рецептора (*extracellular matrix-receptor (ECM-receptor) interaction*), молекулы клеточной адгезии (*cell adhesion molecules (CAMs)*) *и* взаимодействие нейроактивных лигандов с рецептором (*neuroactive ligand-receptor interaction*). Также один набор генов (окислительное фосфорилирование; *oxidative phosphorylation*) был обогащен как у крыс, так и у *Danio rerio*, а два набора было обогащен одновременно у крыс и человека (сплайсосомы (*spliceosomes*) и транспорт РНК (*RNA transport*)). Представленность ДНК сайтов для связывания транскрипционных факторов (ТФ) определила

291 дифференциально представленных ТФ в данных человека, 249 ТФ в данных крыс и 80 в данных *Danio rerio*, при этом 19 ТФ были общими для всех трех видов (Рис. 17).

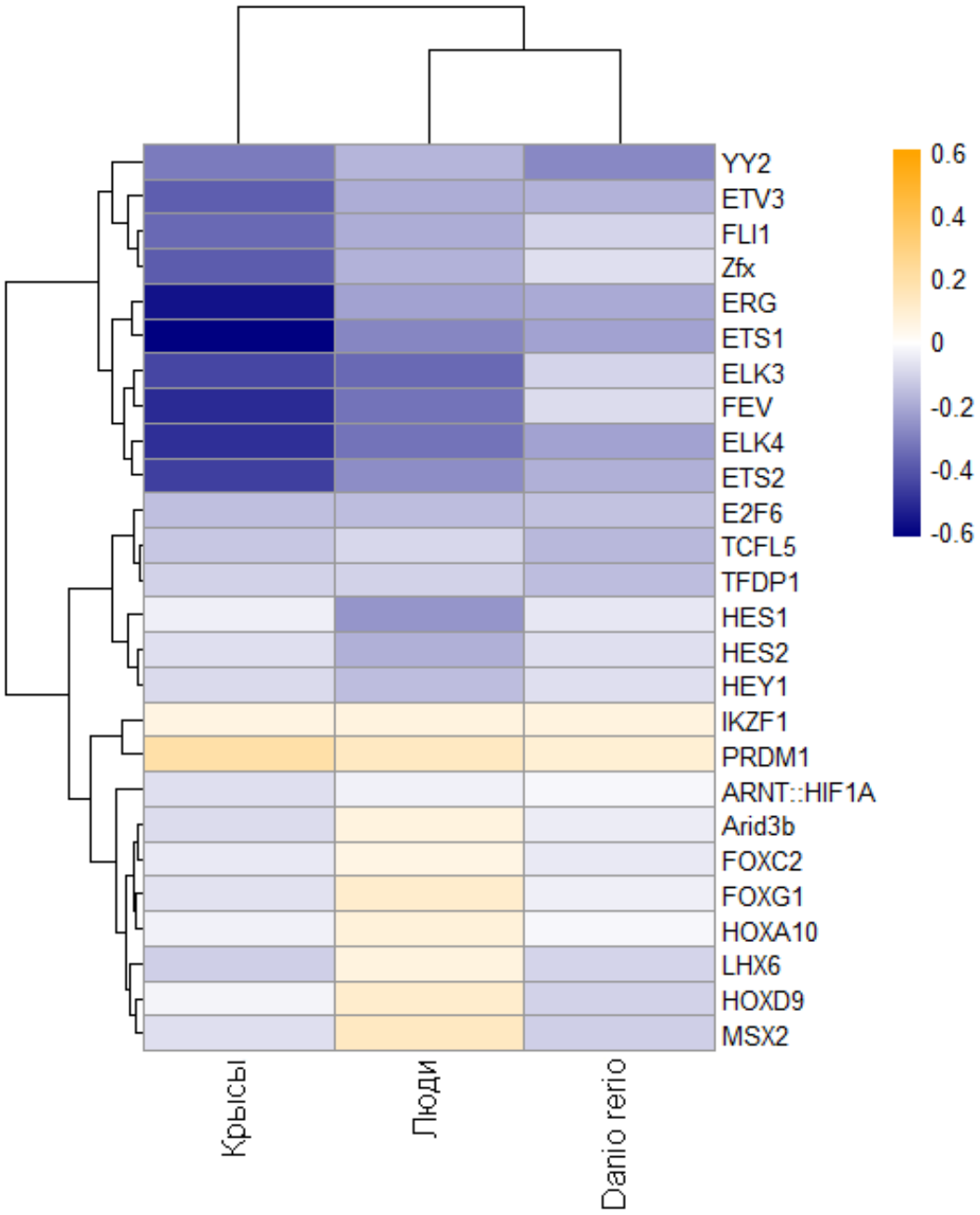

Рис. 17. Общие обогащенные ДНК сайты для связывания транскрипционных факторов (ТФ) у генов с высокой изменчивостью ($p<0,01$) относительно генов с низкой изменчивостью ($p>0,7$), используя данные дифференциально экспрессируемых генов человека, крыс и *Danio rerio* и программу CiiiDer TFMs (Эксперимент 1) [373, 375]. ТФ представлены в порядке статистической значимости ($p<0,05$). Данные представлены как значение логарифма двойки обогащения, подсчитанное согласно мануалу CiiiDer TFMs [375].

Для анализа данных генной экспрессии в Эксперименте 2, межвидовые образцы были объединены в один список, состоящий из генов-ортологов, картрированных с использованием базы данных HomoloGene. При сравнении группы из образцов ХНС и БДР со здоровой контрольной группой не было обнаружено отличий в дифференциальной экспрессии данных генов-ортологов (NS; p скорректированное (FDR) >0,05). Отсутствие статистически значимых эффектов было предсказуемым, в связи с высокой гетерогенностью межвидовых данных, подтверждающейся анализом Методом Главных Компонент (PCA; Рис. 18). В отличие от индивидуальных генов, анализ методом GAGE был более чувствительным, выявив 91 обогащенный набор (Таблица А.19 в приложении). Важно, что все наборы из Эксперимента 1 также были обнаружены в Эксперименте 2. Более того, из этих 4 наборов 3 были наиболее значимо изменившимися в Эксперименте 2, подтверждая их тесную связь с патологией.

Эксперимент 3, исследовавший потенциал использования мета-анализа Фишера для сравнения данных генов-ортологов, выявил 15 дифференциально экспрессируемых генов у человека, 29 у крыс и 62 у *Danio rerio* (Таблицы А.20-22 в приложении). Дальнейший мета-анализ этих данных определил 66 дифференциально экспрессируемых в межвидовой форме генов, при этом 15 из них изменили свою экспрессию в результате развития аффективной патологии в одну сторону во всех трех видах (Рис. 19 и Таблица А.23 в приложении). Анализ GAGE обнаружил 24 обогащенных набора генов человека, 42 крыс и 109 *Danio rerio* (Таблицы А.24-А.26 в приложении). Из них мета-анализ Фишера определил 112 путей как обогащенные (Таблица А.27 в приложении). Затем была сконструирована сеть протеин-протеин взаимодействий из дифференциально экспрессируемых в мета-анализе генов (Эксперимент 3) и раннее обнаруженных дифференциально представленных ТФ (Эксперимент 1), которая оказалась статистически обогащенной связями между протеинами по версии базы данных STRING (p = 8,31e-09) [317], что подтверждает высокую взаимосвязь между двумя экспериментами (Рис. 20). После ранжирования всех вершин данной сети по степени (degree), бутылочному горлышку

(bottleneck), посредничеству (betweenness) и DMNC||MNC (см. Анализ Графов), были отобраны вершины, которые были одновременно высоко оценены как минимум в двух методах, а затем были исключены протеины, гены которых имели разнонаправленную экспрессию в экспериментальных группах разных видов (см. Методы). Таким образом были получены 4 протеина, обнаруженные в Эксперименте 3 и 2 протеина, обнаруженные в Эксперименте 1 (IKZF1, FEZF2, VWF, FLI1, ARNT и ERG Рис. 19-20).

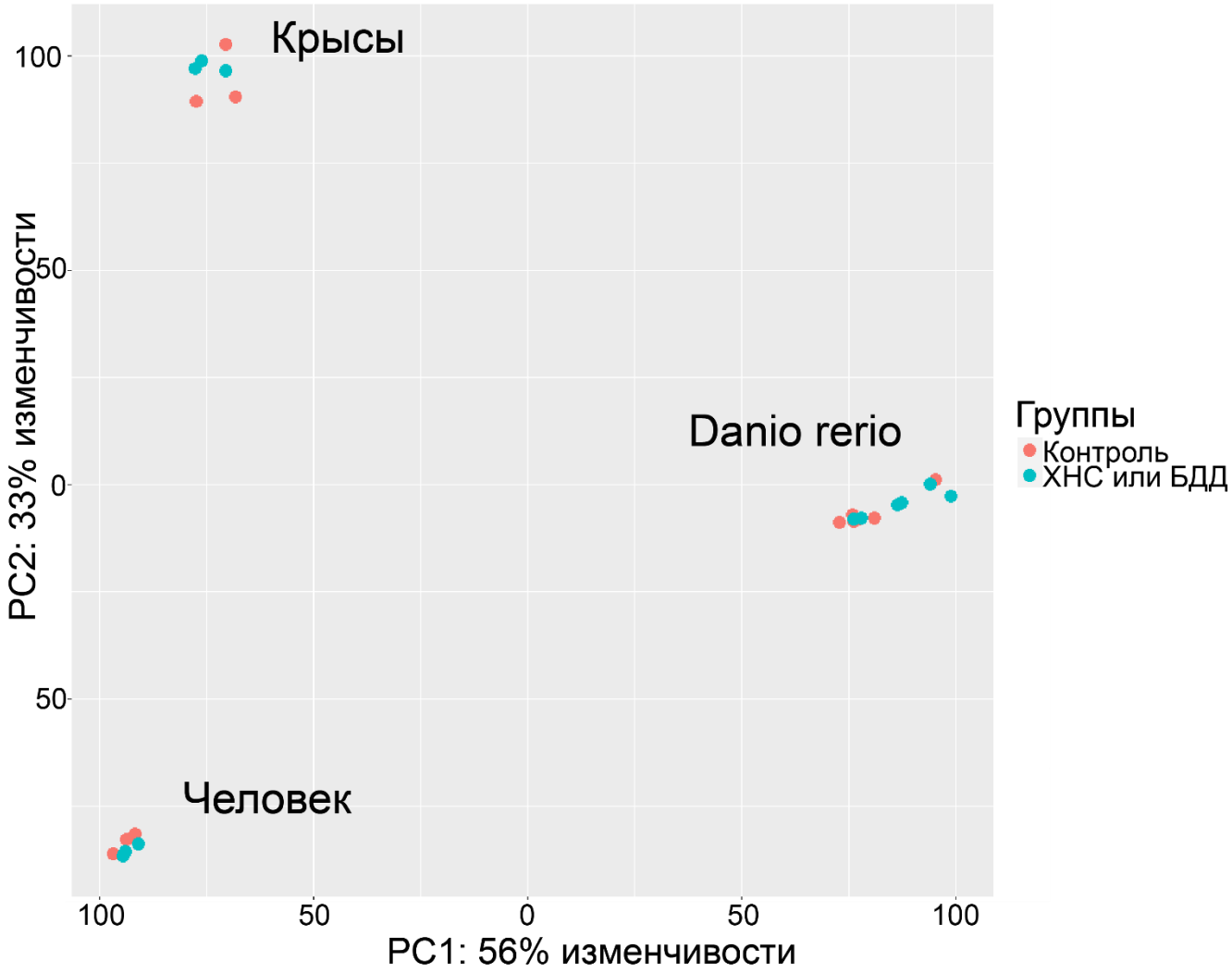

Рис. 18. Анализ методом главных компонент данных Эксперимента 2, в котором изучались данные транскриптома разных видов, объединенных в один эксперимент (ХНС и БДР против контрольных групп) [373]. Наблюдается высокая гетерогенность данных транскриптома разных видов, затрудняющая прямое сравнение.

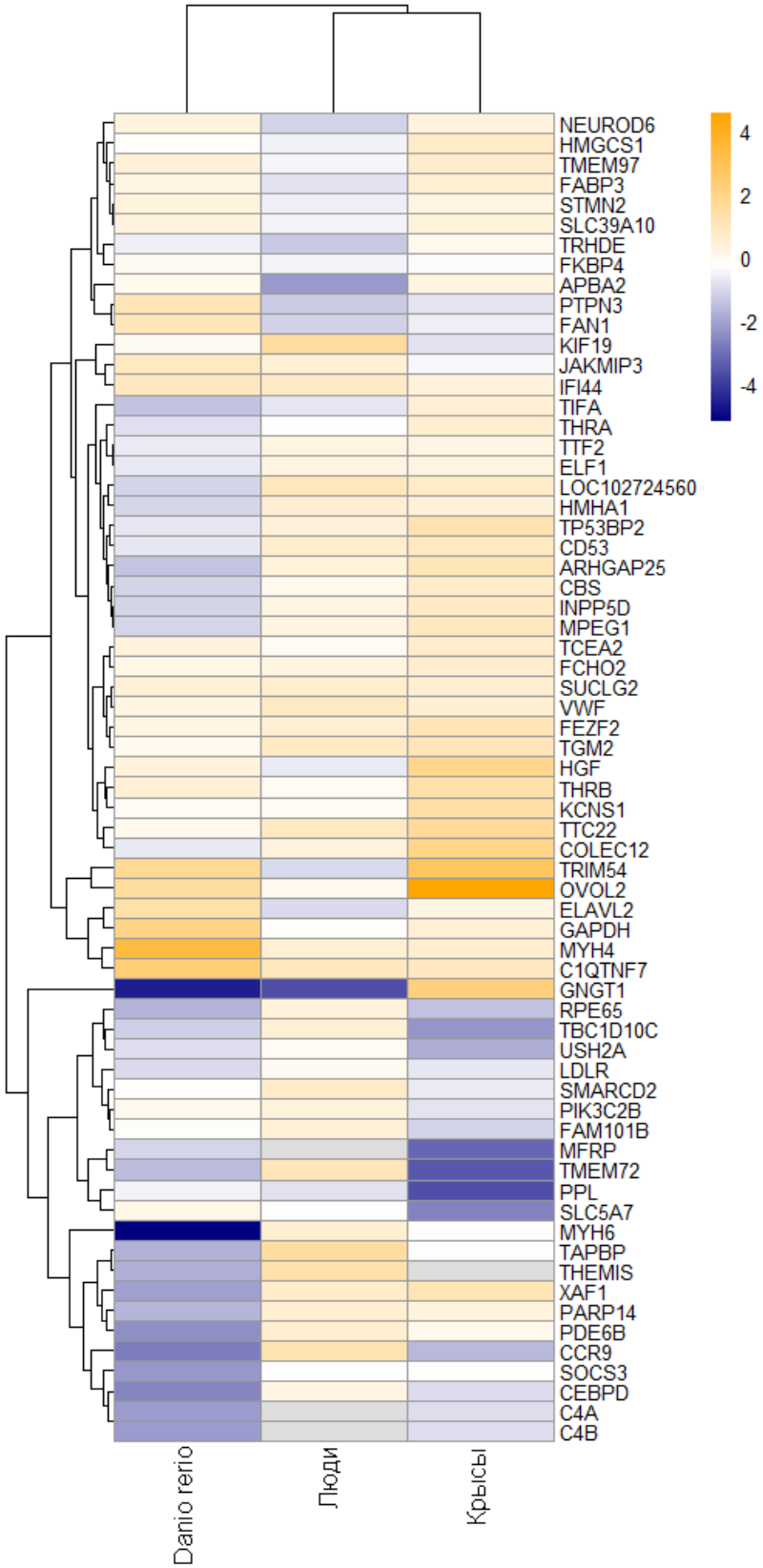

Рис. 19. Тепловая карта со значениями изменений экспрессии генов, которые были статистически значимо изменены в мета-анализе Фишера (Эксперимент 3) [373], в форме логарифма 2.

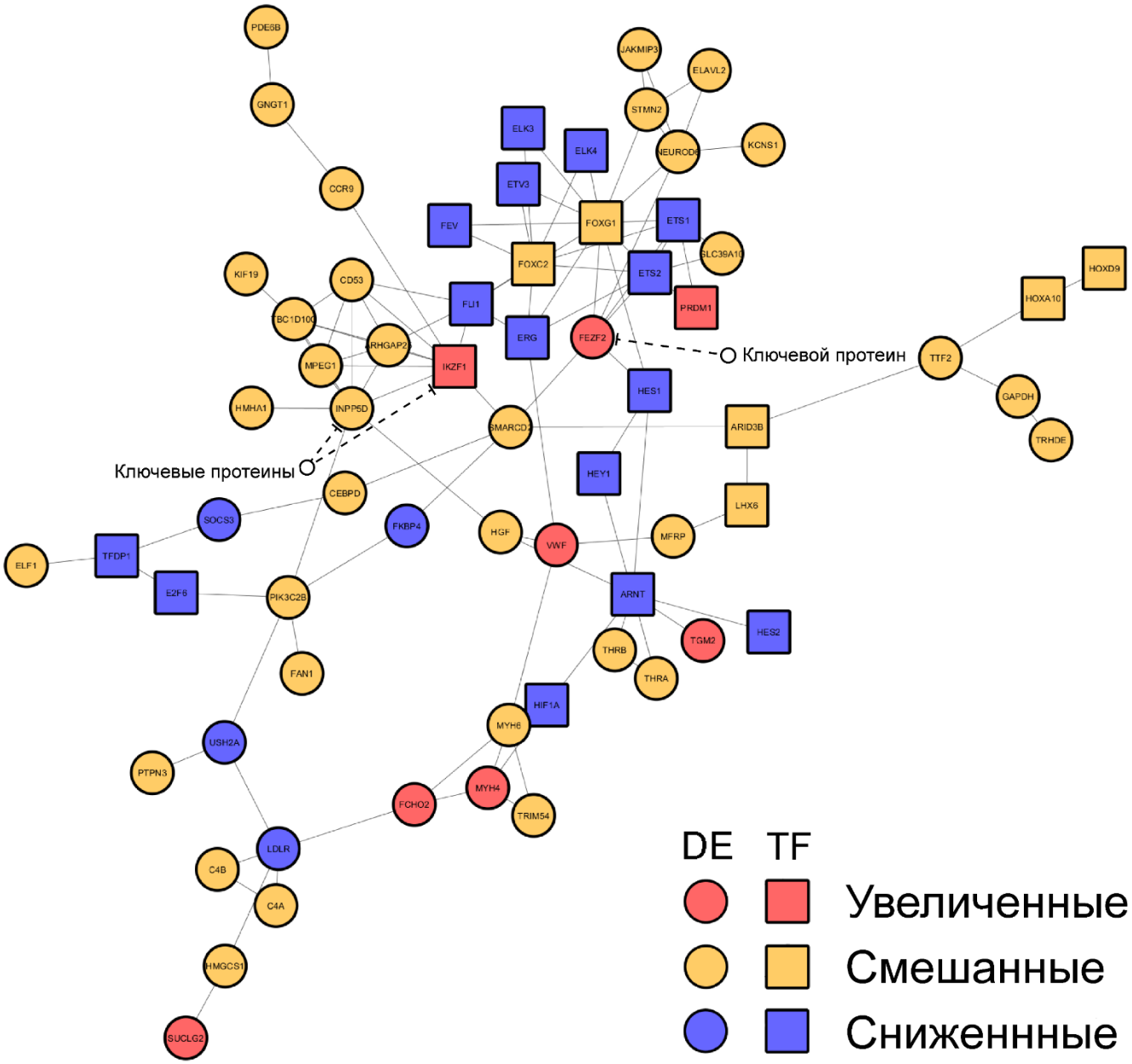

Рис. 20. Сеть протеин-протеин взаимодействий, сконструированная на основе генов, дифференциального экспрессируемых в мета-анализе Фишера в Эксперименте 3 и дифференциально представленных транскрипционных факторов в Эксперименте 1 с использованием базы данных STRING [317, 373].

В теории графов клика является таким подмножеством вершин графа, что каждые две его вершины связаны (соединены) между собой ребром, формируя таким образом полный подграф

[385]. Максимальные клики (МК) представляют собой клики графа, которые не могут быть расширены путем добавления еще одной вершины, что означает, что МК не является подмножеством более большой клики [386]. Используя теорию графов в Эксперименте 4, было определено 121 219 МК в сети протеин-протеин взаимодействий генов-ортологов человека, крыс и *Danio rerio*, включая 21 938 нерибосомальных МК, с максимальным размером N=29. Данные МК были проанализированы далее с использованием GAGE для определения обогащения наборов генов, состоявших из этих клик в абсолютном значении в каждом виде, сравнивая группы ХНС или БДР относительно их контрольной группы (Рис. 14; Таблица А.28 в приложении). Далее был использован мета-анализ Фишера, который определил 257 МК как статистически значимо изменивших свою экспрессию у трех видов, при этом данные 257 МК состояли из 253 уникальных вершин (Таблица А.29 в приложении). В качестве подтверждения концепции, на данном наборе из 253 генов, соответствующих данным вершинам, был использован анализ GAGE. Было обнаружено, что данный набор генов является статистически значимо обогащенным (в абсолютном значении) в группах ХНС и БДР против соответствующих контрольных групп у всех трех видов (Рис. 21 и Таблица А.30 в приложении). Более того, данный набор также был обогащен в образцах префронтальной коры БДР пациентов, но был менее обогащен после воздействия антидепрессантов, относительно группы ХНС, как у *Danio rerio*, так и у крыс (Рис. 21 и Таблица А.30 в приложении).

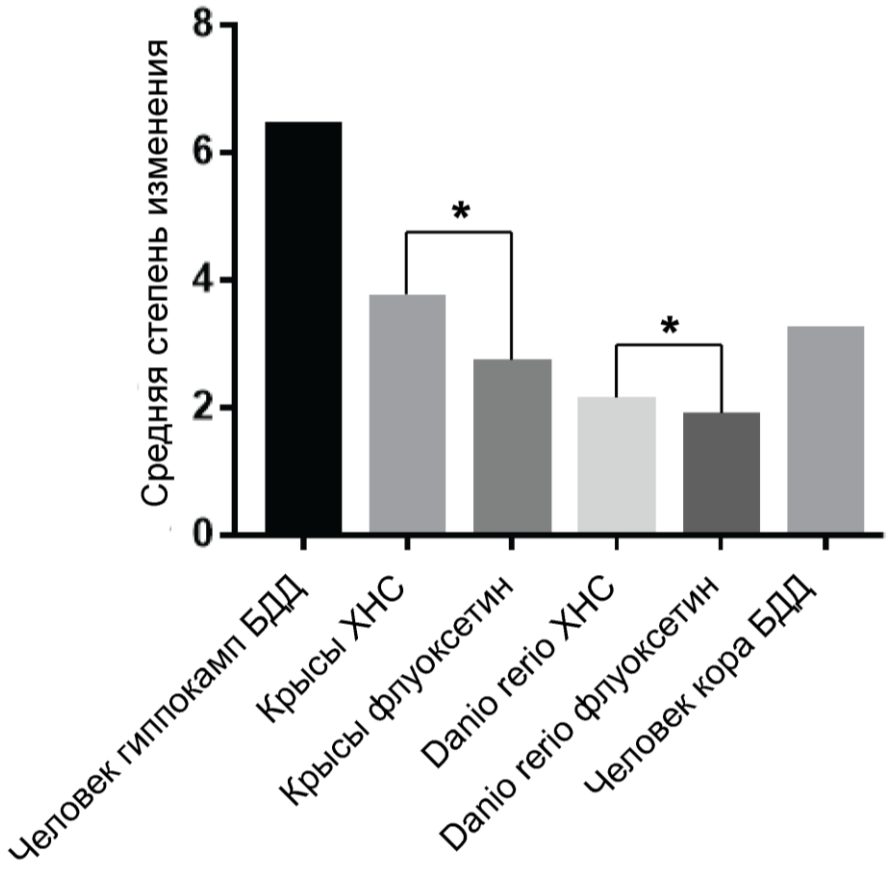

Рис. 21. Результаты анализа обогащения по функциональной принадлежности (GSEA), который сравнивал набор из 253 генов, выбранных на основе статистически значимо обогащенных по мета-анализу Фишера максимальных клик (Эксперимент 4) [373]. Все данные являются статистически значимо измененными относительно контрольной группы ($p<0,05$). * обозначает наличие статистически значимой разницы ($p<0,05$) между соответствующими группами.

Дальнейший анализ был сконцентрирован только на генах из данного набора, которые изменили свою экспрессию в одну сторону в экспериментальных группах всех трех видов (Рис. 22), из которых была создана сеть протеин-протеин взаимодействий состоящая из 45 вершин, включая 6 генов (*GRIA1, DLG1, CDH1, THRB, PLCG2* и *NGEF*), которые обладают наибольшей изменчивостью у всех трех видов (Рис. 23). Пять из этих генов (за исключением *NGEF*) были также высоко изменчивы в группах, получивших воздействие флуоксетина (но в противоположную сторону), также подтверждая их вовлеченность в патогенез и эффекты антидепрессантов (Рис. 24).

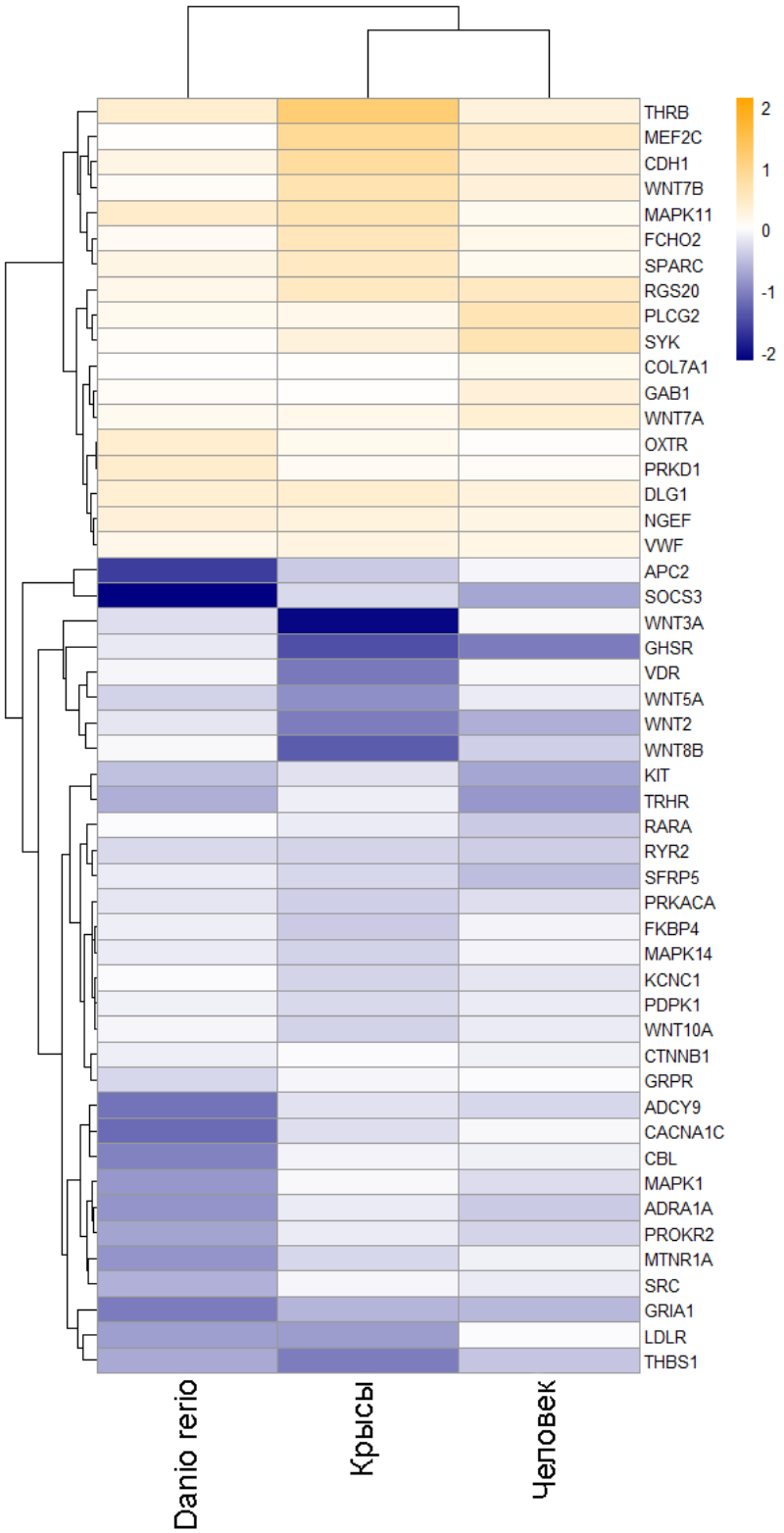

Рис. 22. Гены экспрессируемые в экспериментальных группах в одном направлении относительно контрольной группы, определенные в мета-анализе Фишера, проведенного на данных обогащения максимальных клик (Эксперимент 4) [373]. Данные представлены как степень изменения по логарифму двойки.

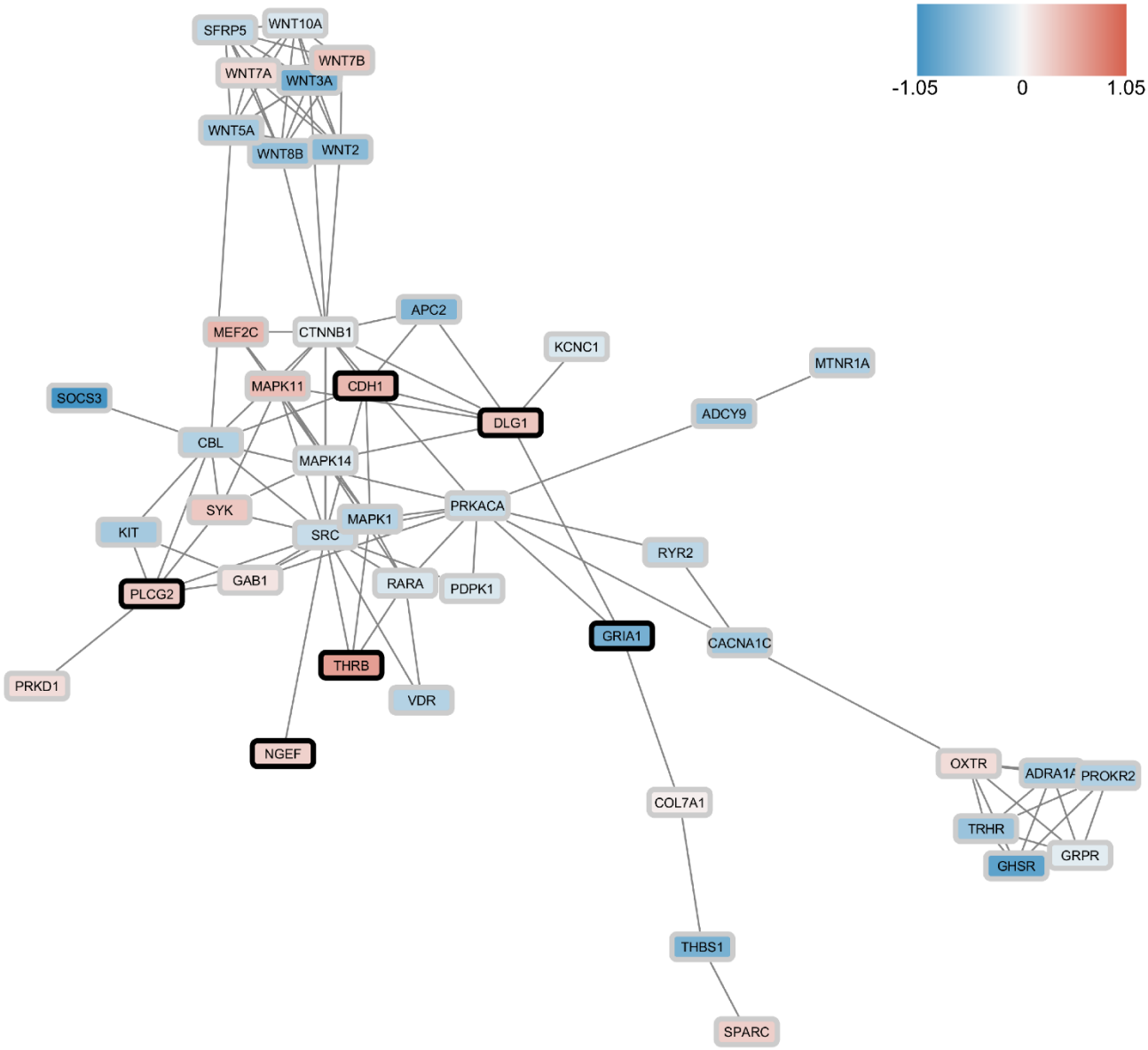

Рис. 23. Сеть взаимодействий протеин-протеин, созданная из генов экспрессируемых в экспериментальных группах в одном направлении относительно контрольной группы, определенные в мета-анализе Фишера, проведенного на данных обогащения максимальных клик (Эксперимент 4, Рис. 22) [373]. Данные представлены как средняя степень изменения по логарифму двойки между видами.

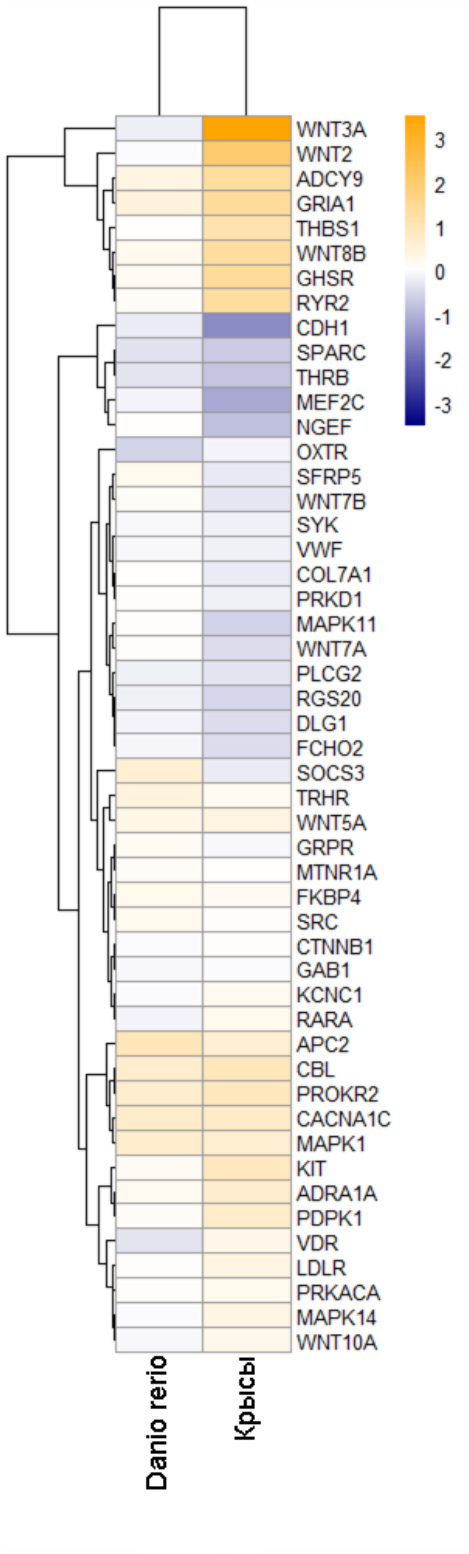

Рис. 24. Тепловая карта, представляющая эффекты флуоксетина на экспрессию тех генов-ортологов, которые были экспрессируемы в экспериментальных группах в одном направлении относительно контрольной группы, определенные в мета-анализе Фишера, проведенного на данных обогащения максимальных клик (Эксперимент 4, Рис. 22) [373]. Данные представлены как степень изменения по логарифму двойки.

В заключение, анализ с использованием теории графов определил несколько хабовых протеинов (Таблица 10), которые могут также представлять интересные мишени. В целом, данный анализ говорит о важном вкладе wnt-пути, определяя несколько wnt протеинов, как хабовые (WNT2, WNT3A, WNT7A и B, WNT8B, WNT10A), протеинов, которые также определялись в других анализах (GRIA1), рецепторов к гормонам (TRHR и OXTR), а также других протеинов (Таблица 10).

Таблица 10. 10 вершин с наибольшими значениями показателей теории графов по DMNC || MNC, степени (degree) и узкому месту (bottleneck, см. секцию методы для деталей расчетов) для сконструированной молекулярной сети протеин-протеин взаимодействий (PPI; база данных String) на основе Эксперимента 1 и 3 или Эксперимента 4 [373].

Название	**DMNC**	**MNC**	**Название**	**Степень**	**Название**	**Узкое место**	**Название**	**Посредничество**
1-ая сеть Эксперимент 1 (ТФ) и Эксперимент 3 (DE)								
IKZF1	**0,57**	**6**	**INPP5D**	**8**	**INPP5D**	**26**	**FEZF2**	**791,91**
CD53	0,57	6	ARNT	8	HGF	16	**INPP5D**	**756**
ARHGAP25	0,57	6	**IKZF1**	**8**	**FEZF2**	**15**	PIK3C2B	746,78
INPP5D	**0,65**	**5**	TBC1D10C	6	PIK3C2B	15	SMARCD2	639,68
TBC1D10C	0,65	5	CD53	6	SMARCD2	15	ARNT	626,43
MPEG1	0,65	5	ARHGAP25	6	**IKZF1**	**10**	**IKZF1**	**519,36**
FLI1	0,46	3	**FEZF2**	**5**	MYH6	10	LDLR	479,63
NEUROD6	0,31	3	PIK3C2B	5	ERG	10	HGF	455,06
STMN2	0,31	3	LDLR	5	ARNT	9	USH2A	436,33
FEZF2	**0,31**	**2**	NEUROD6	5	USH2A	8	NEUROD6	399
2-ая сеть Эксперимент 4								
WNT8B	0,67	8	SRC	15	PRKACA	31	PRKACA	907,62
WNT3A	0,67	8	CTNNB1	12	SRC	11	CTNNB1	544,30
WNT2	0,67	8	PRKACA	11	CTNNB1	10	CACNA1C	456
WNT7A	0,77	7	CBL	9	CACNA1C	7	OXTR	390
WNT7B	0,77	7	WNT8B	8	OXTR	6	SRC	353,57
WNT10A	0,77	7	WNT5A	8	GRIA1	6	CBL	323,20
SFRP5	0,77	7	WNT3A	8	WNT8B	5	GRIA1	269,11
WNT5A	0,77	7	WNT2	8	CBL	5	COL7A1	168
MAPK11	0,41	7	MAPK14	8	GAB1	4	DLG1	161,54
TRHR	0,64	5	MAPK1	8	RARA	3	WNT5A	106,75

3.3 Обсуждение

Данная работа является первой попыткой межвидового анализа изменений транскриптома мозга, возникающих в результате воздействия стресса, с использованием трех важных для нейронауки модельных организмов (человека, крыс и *Danio rerio*) для того, чтобы определить возможные общие механизмы в развитии аффективного патогенеза. Данное исследование также использует несколько новых методов анализа (Эксперименты 2-4), предложенных для решения проблемы, в отличие от более традиционного метода сравнения списков генов между видами напрямую (Эксперимент 1). В наиболее комплексных Экспериментах 3 и 4 используется методика предварительного картрирования генов каждого вида на гены-ортологи между человеком, крысой и *Danio rerio*, с последующим мета-анализов данных экспериментов, полученных по генам-ортологам для каждого вида в отдельности. Данные эксперименты оказались наиболее чувствительными методами определения эволюционно-консервативных молекулярных мишеней среди представленных в работе.

Наиболее интересными мишенями с увеличенной экспрессией или представленностью, определенными по результатам Эксперимента 3 являются Цинковый палец-2 семейства FEZ (*FEZF2*) и Цинковый палец-1 семейства IKAROS (*IKZF1*), оба обладающие классической цинковый палец Cys_2His_2-подобной группой (zf-C2H2) [387] и на 36,67% гомологичные по отношению друг к другу в протеиновых последовательностях (оценивалось при помощи базы данных BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [388]). В нейронах FEZF2 и IKZF1 оба функционируют как важные транскрипционные факторы, определяющие клеточную судьбу клеток нейрональных предшественников [389]. FEZF2 участвует в процессах нейропластичности и процессе передачи информации между нейронами, которые также связаны с кальциевым путем передачи информации, клеточной адгезией и взаимодействием нейроактивных лигандов с рецептором [390] и, таким образом, тесно взаимосвязан с результатами анализа наборов генов KEGG в экспериментах (Рис. 16 и Таблицы А.16-19 в приложении). Кроме того FEZF2

контролирует экспрессию ДНК связывающих протеинов с основной структурой спираль-петля-спираль (HLH) [391, 392], таких как нейрогенины, протеины нейрогенной дифференциации (NEUROD), и ортологов ASCL1, которые представляют собой тесно связанные HLH протеины, контролирующие нейрональную судьбу (например контролируют переключение между нейро- и глио-генезом) [387, 389, 393]. Что интересно, *NEUROD6* также был дифференциально экспрессируемым геном в настоящем исследовании, однако не обладал стабильным паттерном изменения экспрессии в экспериментальных группах разных видов (Рис. 19). IKZF1 тоже участвует в процессе нейрональной дифференциации, включая дифференциацию клеток, экспрессирующих соматолиберин (GHRH) в гипоталамусе млекопитающих [389], а генетический нокаут *Ikzf1* у мышей приводит к развитию выраженного антидепрессантно-подобного поведения, а также снижению выраженности акустической реакции испуга, но неизменного тревожного поведения в приподнятом крестообразном лабиринте и в контекстуальном условном страхе [394]. Обобщая вышесказанное, данные литературы подтверждают потенциальный вклад IKZF1 и FEZF2, как эволюционно консервативных генов кандидатов на роль аффективных молекулярных биомаркеров (Рис. 19).

Однако, данное исследование обладает некоторыми ограничениями. Во-первых, мета-анализ Фишера был избыточно чувствителен к сильно дифференциально экспрессируемым генам-ортологам в индивидуальных данных видов (например *FEZF2* у крыс), таким образом может не полноценно отражать эволюционную консервативность, как предполагается в данной работе. Также в работе использованы образцы цельного мозга *Danio rerio*, но для крыс и человека были использованы данные гиппокампа, что возможно затрудняет сравнение данных между видами. Вдобавок, в данных крыс и человека были использованы только самцы и мужчины, а данные *Danio rerio* представлены в форме смешения полов 1:1. В тоже время результаты сравнений между видами говорят об относительно одинаковом разнообразии между экспериментами, выявляя схожее количество консервативных генов/наборов, а анализ главных

компонент (Эксперимент 2), говорит об относительно одинаковом расстоянии между видами по осям PC1 и PC2. Таким образом, данные, полученные в работе, говорят об относительно высокой валидности использования смешанных по полу и цельномозговых образцов *Danio rerio* в данной пилотной работе. Однако для более надежного определения эволюционно-консервативных мишеней в данной области могут понадобиться дальнейшие исследования. Использование базы данных HomoloGene для определения генов-ортологов между видами также обладало определенными ограничениями, так как данная база данных обновляется вручную и не все гены ортологи между видами отражены в ней на данный момент. Например, ортолог к гену человека *IKZF1* не был обнаружен HomoloGene в крысином геноме, хотя *Ikzf1* существует у крыс и является высокогомологичным по отношению к гену человека и *Danio rerio*, при сравнении с использованием программы BLAST [388]. Таким образом, использование курируемых баз данных для идентификации ортологов может приводить к потере данных, в связи со снижением числа генов, идентифицированных как ортологи, подчеркивая необходимость ручного курирования данных и дальнейшего обновления баз данных.

Как упоминалось раннее, изучение наборов генов в Экспериментах 1-3 оказалось более чувствительным для определения эволюционно-консервативных изменений, чем определение дифференциальной экспрессии индивидуальных генов. В тоже время, в базе данных KEGG отсутствуют наборы генов, которые бы напрямую ассоциировались с аффективным патогенезом, так как на данный момент не известны конкретные молекулярные пути, ответственные за патогенез данных расстройств. Таким образом, становится логичным сфокусироваться на тех наборах генов, которые меняются в самом исследовании, независимо от их наличия в базах данных. Для решения этой проблемы в исследовании использовался новый подход, использующий данные экспрессии наборов генов, содержащих гены, которые были идентифицированы в максимальных кликах из сети протеин-протеин взаимодействий, построенной на основе генов-ортологов трех видов. Хотя раннее анализ максимальных клик

применялся в различных транскриптомных исследованиях [381-384], в данной работе данный подход не только впервые использовался для анализа данных транскриптома ЦНС трех видов в аффективной патологии, но также применялся одновременно с методом мета-анализа, что способствовало определению максимальных клик, экспрессия которых является эволюционно-консервативно значимой в аффективной патологии.

Используя гены из максимальных клик, статистически значимо изменивших свою экспрессию на основании мета-анализа, был также предложен новый набор генов, который может быть потенциально использован для сравнения аффективных патологических состояний (использован в качестве курируемого набора в базах данных). Данный набор генов включает в себя широкий спектр хорошо известных генов, связанных со стрессом и аффективными патологиями, в том числе FOS-, JUN-, MAPK-, Wnt- связанные гены и гены, связанные с адгезией клеток, подтверждая таким образом валидность подхода. Далее, используя гены, которые изменили свою экспрессию в экспериментальных группах в одном направлении, была предложена более маленькая сеть (Рис. 22-23, Таблица А.29 в приложении), в которой также были идентифицированы 6 генов, экспрессия которых оказалась одновременно сильно выражена в аффективной патологии у всех 3 видов (*GRIA1*, *DLG1*, *CDH1*, *THRB*, *PLCG2*, *NGEF*).

Таким образом, предложенный метод анализа максимальных клик в комбинации с методом мета-анализа успешно идентифицировал гены, которые были вовлечены в аффективную патологию у всех изученных видов, представляющие собой эволюционно-консервативные биомаркеры. Более того, экспрессия всех данных генов (за исключением *NGEF*) менялась в противоположную от ХНС и БДР сторону в результате хронического воздействия антидепрессантами, что также подтверждает их вовлеченность не только в стрессорную патологию, но также в эффекты антидепрессантов, таким образом подтверждая фармакологически валидность представленного подхода и наблюдений.

PLCG2 относится к семейству фосполипазы С гамма (PLC) и кодирует энзим 1-фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат фосфодиэстираза гамма-2 (PLCG2), который расщепляет фосфолипид мембраны 1-фосфатидил-1D-мио-инозитол 4,5-бисфосфат (PIP2) на вторичные мессенджеры миоинозитол 1,4, 5-трифосфат (IP_3) и диацилглицерин (DAG), которые, в свою очередь, играют важную роль в проведении сигнала [395-397]. Другой член семейства PLC, *PLCG1* широко экспрессируется в мозге, в особенности в коре и гиппокампе [398], а также связан с расстройствами ЦНС, такими как эпилепсия, болезнь Хантингтона, биполярной и униполярной депрессией [399-401]. В отличие от него, *PLCG2* гораздо больше экспрессируется в костном мозге и лимфоидных органах [402] и участвует в развитии наследственных иммунных и аутоиммунных расстройств [403, 404]. Однако, недавние исследования на мышах показали, что *PLCG2* экспрессируется в зернисто-клеточном слое зубчатой извилины и микроглии [405], а мутации в этом гене могут участвовать в развитии болезни Альцгеймера [405]. Таким образом, современные данные говорят о возможном участии PLCG1 и PLCG2 в нейродегенеративных и аффективных патологиях.

THRB генерирует две изоформы рецептора тироидного гормона бета - TRβ1 и TRβ2 [406]. Вместе с другим рецептором (TRα) данные ядерные рецепторы действуют как транскрипторные факторы, опосредующие геномные эффекты тироидного гормона в различных тканях [407, 408]. Важно отметить, что тироидные рецепторы выраженно экспрессируются в мозге [409, 410], а тироидные гормоны, действуя посредством этих рецепторов, участвуют в регуляции моноаминергической функции, влияя таким образом на поведение и настроение [411-414]. Также заболевания, связанные с дисфункцией тироидной системы, тесно связаны с аффективными расстройствами [415-417].

Ген фактора обмена нейрональных гуаниновых нуклеотидов *NGEF* [418] экспрессируется в хвостатом ядре и связан с активацией протеинов из супер семейства Ras (RHOA, RAC1, и CDC42) и, таким образом, участвует в MAPK-пути передаче сигнала и межклеточных контактах

[419]. NGEF также является частью пути передачи информации рецептора тирозин киназы (EPHA4), ответственного за формирование нейрональных путей, рост нервов, а также изменение морфологии клеток, связанной с ее подвижностью [420-424]. Однако функции *NGEF* остаются плохо изученными, а его роль в патологиях, связанных со стрессом и аффективными расстройствами (которая предполагается в текущем исследовании) требует дальнейшего изучения.

Ген *GRIA1* кодирует протеин GluR1 (GLUA1), являющийся субъединицей рецептора к глутаматному рецептору α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA), играющему важную роль в синаптической пластичности, обучении и памяти [425-427]. *GRIA1* широко экспрессируется во всем объеме мозга крыс и человека, с наибольшей экспрессией в гиппокампе [428, 429]. Что интересно, мыши *Gria1*-/- обладают выраженной гиперлокомоцией, тревожным фенотипом, нарушенной пространственной памятью и распознаванием объектов [430-434]. Растущее число данных говорит о связи нарушений функции GluR1 с уни- и би-полярной депрессией и шизофренией [435-437], подтверждая необходимость дальнейшего исследования функции данного протеина при стрессе *in vivo*. У крыс активность GluR1 изменяется в различных регионах в следствии как острого [438-441] так и хронического стрессорного воздействия [439, 442-450], обычно вызывая снижение экспрессии гена или уровня протеина *Gria1*/GluR1. Однако, паттерны регуляции GluR1 также зависят от длительности стресса и изучаемого региона. Так, например, уровень GluR1 был увеличен в гиппокампе в результате относительно короткого стрессорного воздействия (<21 дней) [439, 445, 446], но снижался спустя 28 дней [447, 449, 450]. Более того, воздействие классическими антидепрессантами, а также кетамином, приводит к увеличению экспрессии *GRIA1* и восстанавливает уровень GluR1 у хронически стрессированных грызунов [451-455]. Совместно с данными, представленными в этой Главе (Рис. 22-23, Таблица А.29 в приложении), можно

предположить высокую вероятность эволюционно-консервативной и ключевой роли GluR1 в аффективном патогенезе.

Большой гомолог discs 1 (DLG1) является протеином семейства мембран-ассоциированной гуанилат киназы (MAGUK), который регулирует активацию B- и T-лимфоцитов и у людей кодируется геном *DLG1* [456, 457]. У крыс Dlg1 находится в пресинаптических окончаниях, а также в скоплениях не миелинизированных аксонов [458]. В дополнение к DLG1, также существуют другие типы DLG (DLG2 (PSD-93), DLG3 (NE-dlg) и DLG4 (PSD-95)) экспрессируемые почти эксклюзивно в ЦНС [459] и, вероятно, принимающие участие в развитии аффективного патогенеза у грызунов (например уровень Dlg4, но не Dlg1 или Dlg2, снижается в гиппокампе мышей спустя 2 дня после теста вынужденного плавания Порсолта [460]). DLG1 также регулирует активность N-метил-D-аспарагиновой кислоты (NDMA) рецепторов глутамата и AMPA рецепторов [461, 462]. Антагонисты к рецептору NDMA, такие как кетамин, проявляют выраженный анксиолитический и антидепрессантный эффект [463], а антагонизм AMPA рецепторов напротив ассоциируется с депрессией [464].

Возможно наиболее интересным наблюдением в контексте аффективной патологии являются изменения в гене эпителиального кадгерина (E-cadherin; *CDH1*), Ca^{2+}-зависимой молекулы клеточной адгезии [465], чей внеклеточный регион выполняет роль адгезивной молекулы, связываясь с кадгеринами на других клетках [466], а внутриклеточный регион взаимодействует с катенинами (α- и β-катенинами) и другими регуляторными протеинами [467]. Так как β-катенин является важным протеином для внутриклеточного проведения молекулярных сигналов в сигнальном пути wnt, комплекс формируемый кадгерином и катенином выступает модулятором передачи внутриклеточного сигнала [468]. Путь Wnt давно обсуждается в контексте аффективного патогенеза [469], а снижение экспрессии *CDH1* отмечалось после воздействия новым, быстро действующим антидепрессантом кетамином *in vitro* [470]. Также классический антидепрессант флуоксетин нарушает адгезию связанную с CDH1 [471]. В отличие

от остальных генов, обсуждаемых в данной работе, *CDH1* также выраженно экспрессируется в префронтальной коре пациентов с БДР относительно контрольной группы (анализируя используя протокол аналогичный Эксперименту 4), подтверждая не только эволюционно-консервативную роль, но также возможное отсутствие тканевой специфичности данных нарушений.

Обобщая вышесказанное, трансляционные подходы остаются ключевым механизмом для инновационных исследований в области ЦНС. В данной работе было впервые применено несколько новых методов, ставящих своей задачей определить эволюционно-консервативные транскриптомные фенотипы между тремя разными моделями позвоночных животных (*Danio rerio*, крысы и клинические данные). Используя данные подходы GRIA1, DLG1, CDH1, THRB, PLCG2, NGEF, IKZF1, FEZF2 были определены как перспективные молекулярные мишени в аффективной патологии позвоночных, чье дальнейшее исследование может способствовать развитию данной области.

Заключение

В работе успешно произведена оценка поведенческих, физиологических и молекулярно-генетических фенотипов, опосредующих стресс-индуцированный аффективный патогенез. В том числе:

1. Впервые разработан тест на поведение «отчаяния» (тест подвешивания за хвост) на *Danio rerio*, который, согласно его фармакологической, стрессорной и нейрохимической валидации, может являться аналогом тестов на поведение «отчаяния» грызунов. Так, активность *Danio rerio* в данном тесте повышается после воздействия антидепрессантами, но снижается при воздействии стрессорами и остается неизменной при воздействии противотревожными препаратами без антидепрессантного воздействия. Также было показано, что поведение в данном тесте тесно связано с оборотом серотонина и, в меньшей степени, дофамина, тесно перекликаясь с известными данными по моделям грызунов и эффектами классических антидепрессантов в мозге. Таким образом, разработанный тест может быть рекомендован для дальнейшего использование в качестве теста для скрининга антидепрессантной активности препаратов.

2. Впервые была исследована сложная еженедельная динамика нейрохимических и поведенческих изменений, вызываемых моделью хронического непредсказуемого стресса на примере модельного организма *Danio rerio*, а также их коррекция хроническим воздействием антидепрессантных средств. Было показано, что модель хронического непредсказуемого стресса вызывает выраженный тревожный фенотип на протяжении всего времени тестирования, при этом, различные классические парадигмы оценки тревожного поведения оказались в разной степени эффективными, в зависимости от недели тестирования. Высокая тревожность также является основным стабильным фенотипом, наблюдаемым в моделях хронического стресса грызунов, что подчеркивает высокую степень валидности модели. Также было показано, что новый тест на поведение «отчаяния», предложенный в Главе 1, показывает сложную временную динамику – активность рыбы в тесте снижается на первой неделе моделирования, повышается на

третьей и остается неизменной на протяжении остальных недель моделирования. Эти результаты являются важными с точки зрения наличия большой вариабельности в работах, исследующих эффекты хронического стресса у грызунов, и указывают на наличие сложного паттерна поведения «отчаяния» в моделях аффективных патологий. Нейрохимические исследования показали, что начиная с третьей недели моделирования у *Danio rerio* развивается устойчивое снижение уровня метаболизма серотонина, что хорошо согласуется с клиническими исследованиями, связывающими аффективные патологии со снижением метаболизма моноаминов в мозге. В тоже время на вторую неделю наблюдалось повышение метаболизма, что подчеркивает важность долгосрочного (более 2 недель) моделирования для воспроизведения состояний, характерных для патологий человека. Таким образом, в данной работе было подтверждено существование высокой вариабельности в поведенческих и молекулярных показателях с течением времени моделирования, что подчеркивает важность выбора корректных длительностей протокола при исследованиях, а также важность учета времени моделирования и выраженности стрессоров при сравнении результатов работ. При этом, антидепрессант флуоксетин успешно восстановил большую часть показателей до уровня контрольной группы, что подтверждает валидность моделей хронического стресса.

3. Были детально описаны и проанализированы эффекты хронического стресса на экспрессию генов в цельном мозге *Danio rerio*. Так, было показано, что хронический стресс запускает экспрессию генов, связанных с нейровоспалительными процессами, структурными изменениями в цитоскелете и механизмах адгезии, а также регуляции передачи информации в GPCR при помощи аррестинов и убиквитинов. В работе были также выявлены ключевые хабовые гены молекулярных сетей взаимодействий протеин-протеин и коэкспрессии генов, построенных из дифференциально экспрессируемых генов. Такие гены как *tpm4b, isg15, stat1b, mov10b.1, CABZ01073795.1, mxa,* и другие могут выступать важными новыми мишенями для воздействия на патогенез аффективных расстройств. При этом воздействие антидепрессантом флуоксетином

восстановило экспрессию большинства генов до уровня контрольной группы. В тоже время, часть генов осталась устойчивой к воздействию флуоксетина, что может говорить о том, что современные антидепрессанты не воздействуют на центральное звено патогенеза депрессии и воздействие на гены, экспрессия которых не корректируется воздействием флуоксетина (например, *isg15*), может являться перспективной стратегией для поиска новых лекарственных средств.

4. Были разработаны и успешно применены новые методы межвидовой трансляции данных транскриптома, и оценен потенциал их использования в нейробиологичесих исследованиях. В частности, было произведено сравнение профилей транскриптомов ЦНС при аффективном патогенезе человека (Большое Депрессивное Расстройство) или животных (Хронический Непредсказуемый Стресс) четырьмя концептуально различными методами анализа и сравнения данных РНК-секвенирования. Так, было успешно произведено «прямое» сравнение данных, при котором при помощи диаграмм Венна сравнивались списки дифференциально экспрессируемых генов и обогащенных наборов генов, полученных для каждого вида в отдельных анализах, проведенных классическими способами. Также была предпринята попытка объединения данных транскриптомов различных животных в один эксперимент, при помощи их картрирования на гены-ортологи человека, общие для всех трех видов. Для следующего предложенного эксперимента также использовались только гены-ортологи человека. Однако данные анализировались в отдельности для каждого вида, после этого сравнивая результаты при помощи мета-аналитических методов. Последний предложенный метод, оказавшийся наиболее эффективным, использовал для анализа уровни экспрессии максимальных клик, образующихся в сети протеин-протеин взаимодействий, построенной для генов-ортологов человека с последующим мета-анализом уровней экспрессии этих клик между видами и определением ключевых генов, содержащихся в данных кликах, ответственных за аффективный патогенез у всех трех видов одновременно. Успешно выявив схожие черты

патогенеза, последние 2 метода, использующие мета-аналитический подход, имеют высокий потенциал для дальнейшего применения в трансляционных исследованиях. Стоит также отметить, что все из представленных методов в той или иной степени определяли схожие отклонения в каждом анализе, что подтверждает валидность каждого из них в отдельности.

5. Были определены общие отклонения экспрессии генов мозга, возникающие у *Danio rerio* и крыс, подвергнутых модели хронического непредсказуемого стресса, а также у людей с Большим Депрессивным Расстройством (БДР) (Глава 3). Используя новые подходы GRIA1, DLG1, CDH1, THRB, PLCG2, NGEF, IKZF1, FEZF2 были определены как перспективные молекулярные мишени в аффективной патологии позвоночных, чье дальнейшее исследование может способствовать развитию данной области. Большинство из данных генов раннее не были описаны как непосредственно связанные с аффективным патогенезом, что подчеркивает возможность данных подходов идентифицировать новые молекулярные мишени, являющиеся эволюционно-консервативными между видами, однако не выявляющиеся классическими внутривидовыми исследованиями.

6. По материалам диссертации опубликовано 26 работ: 11 научных статей, индексируемых в WoS и Scopus, а также 15 публикаций в материалах международных конференций.

Результаты и выводы, полученные в работе, имеют высокую трансляционную и прикладную значимость. Так, предложенный тест для определения «отчаяния» у *Danio rerio* может быть использован в качестве дополнительной стадии скрининга препаратов, предшествуя тестированиям грызунов, для предварительного отсеивания молекул без психоактивных свойств. Такое использование теста могло бы существенно снизить стоимость поиска и вывода на рынок новых психоактивных препаратов за счет снижения числа использованных грызунов. Внедрение теста также будет способствовать снижению этической нагрузки на исследования, связанные с фенотипом «отчаяния» за счет использования более простого с эволюционной точки зрения

организма. Дальнейшие исследования нейробиологических основ «отчаяния» у *Danio rerio* могут способствовать определению основных механизмов, опосредствующих данный фенотип у позвоночных животных, в том числе за счет относительной простоты нервной системы данного организма. Исследование по хроническому непредсказуемому стрессу *Danio rerio* подтверждает высокую эволюционную-консервативность стрессорной патологии у позвоночных, что говорит об относительной эволюционной древности данного патологического фенотипа и потенциале использования модели для дальнейших исследований. При этом результаты исследования хронического непредсказуемого стресса на данной модели говорят о высокой значимости продолжительного стрессирования животных для корректного моделирования патологии, а также о высокой изменчивости поведенческих и нейрохимических данных модели в течение времени, что является важным источником вариабельности в текущих исследованиях хронического стресса как у *Danio rerio,* так и у крыс. Предложенные методы анализа транскриптома могут быть использованы для межвидового анализа данных других гетерогенных заболеваний, в том числе психических и неврологических, для определения схожих отклонений, которые могли бы являться ключевыми для патогенеза. В завершение, обнаруженные эволюционно-консервативные отклонения в транскриптоме мозга в аффективных патологиях *Danio rerio,* крыс и человека могут быть использованы для разработки принципиально новых фармакологических препаратов, животных моделей (в том числе генетических), а также теорий патогенеза аффективных расстройств.

Выводы

1) При помощи фармакологических и стрессорных воздействий было подтверждено, что тест подвешивания за хвост *Danio rerio* имеет сходство с тестами на поведение «отчаяния» у грызунов. Так, фенотип, наблюдаемый в тесте, оказался чувствительным к воздействию сертралина и амитриптилина, острым стрессорным воздействиям, но не к противотревожному препарату феназепаму. Было показано, что в процессе тестирования у рыб повышается оборот серотонина в мозге, а комбинация тестирования и предварительного стрессорного воздействия повышает и оборот серотонина и оборот дофамина. При этом антидепрессанты оказывают обратный эффект на данные нейрохимические показатели во время тестирования.

2) Хронический непредсказуемый стресс (ХНС) *Danio rerio* снижает время, проводимое рыбой в верхней половине аквариума в тесте незнакомого аквариума на протяжении всего времени моделирования, что говорит о развитии выраженного аффективного тревогоподобного фенотипа. В других тестах наблюдалась сложная временная динамика изменения ключевых поведенческих показателей. При этом ХНС увеличил оборот серотонина в мозге *Danio rerio* на второй неделе тестирования и снизил его оборот на третьей и четвертой неделе. Таким образом, в зависимости от продолжительности стрессирования, наблюдалась высокая поведенческая и нейрохимическая изменчивость фенотипов, наблюдаемых в модели.

3) Модель хронического непредсказуемого стресса приводит к дифференциальной экспрессии 196 генов и обогащению 97 наборов генов в мозге *Danio rerio* после 5 недели воздействий. Дополнительное хроническое воздействие антидепрессантом флуоксетином в течение 1 недели успешно восстанавливает экспрессию большинства этих генов, что выражается в только 49 дифференциально экспрессируемых генах и 74 обогащенных наборах генов (по сравнению с контрольной группой). В сети протеин-протеин взаимодействий, построенной из дифференциально экспрессируемых в анализе генов, протеины tpm4b, mov10b.1, isg15, stat1b можно выделить как важные молекулярные мишени для дальнейших исследований.

4) Традиционные методы прямого сравнения данных транскриптома между разными видами выявляют низкое число общих генов и наборов генов, участвующих в патогенезе стресс-индуцированных расстройств. Предложенные методы межвидового анализа транскриптома с использованием мета-аналитического сравнения данных анализа дифференциальной экспрессии генов или обогащения клик в сети протеин-протеин взаимодействий каждого вида в отдельности, используя гены-ортологи, общие между данными видами, могут являться более эффективными для определения эволюционно-консервативных механизмов развития патологий.

5) Согласно проведенным анализам, экспрессия генов-ортологов *GRIA1, DLG1, CDH1, THRB, PLCG2, NGEF, IKZF1, FEZF2* в материале мозга хронически стрессированных *Danio rerio* и крыс, а также людей с Большим Депрессивным Расстройством, обладает наибольшей степенью консервативности. Также, по результатам работы был предложен набор из 253 генов, который потенциально может быть использован в качестве референсного набора для определения взаимосвязи наблюдаемых изменений транскриптома с аффективной патологией.

Благодарности

Выражаю благодарность своему научному руководителю профессору Алану Валерьевичу Калуеву - за чуткое руководство над проектом и неизмеримую карьерную поддержку; моим близким, за их стойкую моральную поддержку и за их незаменимый вклад в стимулирование моей креативности; профессорам Раулю Радиковичу Гайнетдинову (ИТБМ) и Галагудзе Михаилу Михайловичу (НМИЦ им. В.А. Алмазова) за их коллегиальное воодушевление и емкую ресурсную поддержку проекта; к.б.н. Ефимовой Евгении Викторовной за помощь с хроматографическими экспериментами, профессору Александре Давыдовне Харазовой (СПбГУ) за внимательное, доброжелательное отношение и обеспечение коммуникации с Биологическим факультетом СПбГУ; сотрудникам и студентам Института Трансляционной Биомедицины СПбГУ, в частности Лаборатории биологической психиатрии, за их высокий интерес к проекту, обучению многим используемым в нем методикам, возможность его обсуждения в ходе работы и за тесную дружескую атмосферу сложившуюся в коллективе; Ресурсному центру СПбГУ Развитие Молекулярных и Клеточных Технологий, в частности Машарскому Алексею Эльвиновичу, за большую помощь в организации молекулярной работы по проекту, а также СПбГУ, РНФ и РФФИ – за их финансовую поддержку части настоящих исследований.

Список публикаций, в которых излагаются основные научные результаты диссертации:

1. Demin K. A., Lakstygal A. M., Chernysh M. V., Krotova N. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Seredinskaya M. V., Tagawa N., Savva A. K., Mor M. S. The zebrafish tail immobilization (ZTI) test as a new tool to assess stress-related behavior and a potential screen for drugs affecting despair-like states // Journal of Neuroscience Methods. — 2020
2. Demin K. A., Lakstygal A. M., Krotova N. A., Masharsky A., Tagawa N., Chernysh M. V., Ilyin N. P., Taranov A. S., Galstyan D. S., Derzhavina K. A. Understanding complex dynamics of behavioral, neurochemical and transcriptomic changes induced by prolonged chronic unpredictable stress in zebrafish // Scientific reports. — 2020. — Т. 10, № 1. — С. 1-20
3. Demin K. A., Kolesnikova T. O., Galstyan D. S., Krotova N. A., Ilyin N. P., Derzhavina K. A., Levchenko N. A., Strekalova T., de Abreu M. S., Petersen E. V. Modulation of behavioral and neurochemical responses of adult zebrafish by fluoxetine, eicosapentaenoic acid and lipopolysaccharide in the prolonged chronic unpredictable stress model // Scientific reports. — 2021. — Т. 11, № 1. — С. 1-15
4. 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. — 2017. — Jul. — Т. 62. — С. 27-33
5. 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. — May 8
6. de Abreu M. S., Friend A. J., Demin K. A., Amstislavskaya T. G., Bao W., Kalueff A. V. Zebrafish models: do we have valid paradigms for depression? // Journal of pharmacological and toxicological methods. — 2018
7. Ma L., Demin K. A., Kolesnikova T. O., Kharsko S. L., Zhu X., Yuan X., Song C., Meshalkina D. A., Leonard B. E., Tian L. Animal inflammation-based models of depression and their application to drug discovery // Expert opinion on drug discovery. — 2017. — Т. 12, № 10. — С. 995-1009
8. Demin K. A., Sysoev M., Chernysh M. V., Savva A. K., Koshiba M., Wappler-Guzzetta E. A., Song C., De Abreu M. S., Leonard B., Parker M. O. Animal models of major depressive disorder and the implications for drug discovery and development // Expert opinion on drug discovery. — 2019. — Т. 14, № 4. — С. 365-378
9. 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 animal. — 2017. — Т. 46, № 10. — С. 378-387
10. Demin K. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Lakstygal A. M., Volgin A. D., de Abreu M. S., Strekalova T., Kalueff A. V. Understanding neurobehavioral effects of acute and chronic stress in zebrafish // Stress. — 2021. — Т. 24, № 1. — С. 1-18
11. Demin K. A., Lakstygal A. M., Alekseeva P. A., Sysoev M., de Abreu M. S., Alpyshov E. T., Serikuly N., Wang D., Wang M., Tang Z. The role of intraspecies variation in fish neurobehavioral and neuropharmacological phenotypes in aquatic models // Aquatic toxicology. — 2019.

Список использованной литературы

1. McEwen B. S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain // Physiological reviews. — 2007. — V. 87, № 3. — P. 873-904.
2. Sapolsky R. M. The endocrine stress-response and social status in the wild baboon // Hormones and behavior. — 1982. — V. 16, № 3. — P. 279-292.
3. Chrousos G. P., Gold P. W. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis // Jama. — 1992. — V. 267, № 9. — P. 1244-1252.
4. Chrousos G. P. Stress and disorders of the stress system // Nature reviews endocrinology. — 2009. — V. 5, № 7. — P. 374.
5. Walker E., Mittal V., Tessner K. Stress and the hypothalamic pituitary adrenal axis in the developmental course of schizophrenia // Annu. Rev. Clin. Psychol. — 2008. — V. 4. — P. 189-216.
6. Kyrou I., Tsigos C. Stress mechanisms and metabolic complications // Hormone and Metabolic Research. — 2007. — V. 39, № 06. — P. 430-438.
7. Elenkov I. J., Chrousos G. P. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity // Annals of the New York Academy of Sciences. — 2002. — V. 966, № 1. — P. 290-303.
8. Golovatscka V., Ennes H., Mayer E. A., Bradesi S. Chronic stress-induced changes in pro-inflammatory cytokines and spinal glia markers in the rat: a time course study // Neuroimmunomodulation. — 2012. — V. 19, № 6. — P. 367-376.
9. Yang P., Gao Z., Zhang H., Fang Z., Wu C., Xu H., Huang Q.-J. Changes in proinflammatory cytokines and white matter in chronically stressed rats // Neuropsychiatric disease and treatment. — 2015. — V. 11. — P. 597.
10. Charmandari E., Tsigos C., Chrousos G. Endocrinology of the stress response // Annu. Rev. Physiol. — 2005. — V. 67. — P. 259-284.
11. Thomson F., Craighead M. Innovative approaches for the treatment of depression: targeting the HPA axis // Neurochemical Research. — 2008. — V. 33, № 4. — P. 691-707.
12. Barden N. Implication of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the physiopathology of depression // Journal of Psychiatry and Neuroscience. — 2004. — V. 29, № 3. — P. 185.
13. Moussavi S., Chatterji S., Verdes E., Tandon A., Patel V., Ustun B. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys // The Lancet. — 2007. — V. 370, № 9590. — P. 851-858.
14. Kohn R., Saxena S., Levav I., Saraceno B. The treatment gap in mental health care // Bulletin of the World health Organization. — 2004. — V. 82. — P. 858-866.
15. Patros P., Shamoo T. K. Depression and suicide in children and adolescents // Boston: Aleyn and Bacon Inc. — 1989.
16. Sandi C., Richter-Levin G. From high anxiety trait to depression: a neurocognitive hypothesis // Trends in neurosciences. — 2009. — V. 32, № 6. — P. 312-320.
17. Krishnan V., Nestler E. J. The molecular neurobiology of depression // Nature. — 2008. — V. 455, № 7215. — P. 894-902.
18. Sgoifo A., Meerlo P. Animal models of social stress: implications for the study of stress related pathologies in humans // Stress. — 2002. — V. 5, № 1. — P. 1-2.
19. Scharf S. H., Schmidt M. V. Animal models of stress vulnerability and resilience in translational research // Current Psychiatry Reports. — 2012. — V. 14, № 2. — P. 159-165.
20. Czéh B., Fuchs E., Wiborg O., Simon M. Animal models of major depression and their clinical implications // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2016. — V. 64. — P. 293-310.
21. Bondi C. O., Rodriguez G., Gould G. G., Frazer A., Morilak D. A. Chronic unpredictable stress induces a cognitive deficit and anxiety-like behavior in rats that is prevented by chronic

antidepressant drug treatment // Neuropsychopharmacology. — 2008. — V. 33, № 2. — P. 320-331.
22. Cox B. M., Alsawah F., McNeill P. C., Galloway M. P., Perrine S. A. Neurochemical, hormonal, and behavioral effects of chronic unpredictable stress in the rat // Behavioural brain research. — 2011. — V. 220, № 1. — P. 106-111.
23. Otabi H., Goto T., Okayama T., Kohari D., Toyoda A. The acute social defeat stress and nest-building test paradigm: A potential new method to screen drugs for depressive-like symptoms // Behavioural processes. — 2017. — V. 135. — P. 71-75.
24. Monteiro S., Roque S., de Sá-Calçada D., Sousa N., Correia-Neves M., Cerqueira J. J. An efficient chronic unpredictable stress protocol to induce stress-related responses in C57BL/6 mice // Frontiers in psychiatry. — 2015. — V. 6. — P. 6.
25. Ma L., Demin K. A., Kolesnikova T. O., Kharsko S. L., Zhu X., Yuan X., Song C., Meshalkina D. A., Leonard B. E., Tian L. Animal inflammation-based models of depression and their application to drug discovery // Expert opinion on drug discovery. — 2017. — V. 12, № 10. — P. 995-1009.
26. Demin K. A., Sysoev M., Chernysh M. V., Savva A. K., Koshiba M., Wappler-Guzzetta E. A., Song C., De Abreu M. S., Leonard B., Parker M. O. Animal models of major depressive disorder and the implications for drug discovery and development // Expert opinion on drug discovery. — 2019. — V. 14, № 4. — P. 365-378.
27. Katz R. J. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 1982. — V. 16, № 6. — P. 965-968.
28. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation // Psychopharmacology. — 1997. — V. 134, № 4. — P. 319-329.
29. Katz R. J. Animal models and human depressive disorders // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 1981. — V. 5, № 2. — P. 231-246.
30. Echandia E. R., Gonzalez A., Cabrera R., Fracchia L. A further analysis of behavioral and endocrine effects of unpredictable chronic stress // Physiology & behavior. — 1988. — V. 43, № 6. — P. 789-795.
31. Mineur Y. S., Belzung C., Crusio W. E. Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice // Behavioural brain research. — 2006. — V. 175, № 1. — P. 43-50.
32. Paolo S., Brain P., Willner P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression // Physiology & behavior. — 1994. — V. 56, № 5. — P. 861-867.
33. Hill M. N., Hellemans K. G., Verma P., Gorzalka B. B., Weinberg J. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2012. — V. 36, № 9. — P. 2085-2117.
34. Stockmeier C. A., Dilley G. E., Shapiro L. A., Overholser J. C., Thompson P. A., Meltzer H. Y. Serotonin receptors in suicide victims with major depression // Neuropsychopharmacology. — 1997. — V. 16, № 2. — P. 162-173.
35. Stockmeier C. A., Shapiro L. A., Dilley G. E., Kolli T. N., Friedman L., Rajkowska G. Increase in serotonin-1A autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression—postmortem evidence for decreased serotonin activity // Journal of Neuroscience. — 1998. — V. 18, № 18. — P. 7394-7401.
36. Van Praag H. M. Depression, suicide and the metabolism of serotonin in the brain // Journal of Affective Disorders. — 1982.
37. Bhutani M. K., Bishnoi M., Kulkarni S. K. Anti-depressant like effect of curcumin and its combination with piperine in unpredictable chronic stress-induced behavioral, biochemical and neurochemical changes // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2009. — V. 92, № 1. — P. 39-43.

38. Xu Q., Yi L.-T., Pan Y., Wang X., Li Y.-C., Li J.-M., Wang C.-P., Kong L.-D. Antidepressant-like effects of the mixture of honokiol and magnolol from the barks of Magnolia officinalis in stressed rodents // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2008. — V. 32, № 3. — P. 715-725.
39. Li Y.-C., Wang F.-M., Pan Y., Qiang L.-Q., Cheng G., Zhang W.-Y., Kong L.-D. Antidepressant-like effects of curcumin on serotonergic receptor-coupled AC-cAMP pathway in chronic unpredictable mild stress of rats // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2009. — V. 33, № 3. — P. 435-449.
40. Ahmad A., Rasheed N., Banu N., Palit G. Alterations in monoamine levels and oxidative systems in frontal cortex, striatum, and hippocampus of the rat brain during chronic unpredictable stress // Stress. — 2010. — V. 13, № 4. — P. 356-365.
41. Shi C.-g., Wang L.-m., Wu Y., Wang P., Gan Z.-j., Lin K., Jiang L.-x., Xu Z.-q., Fan M. Intranasal administration of nerve growth factor produces antidepressant-like effects in animals // Neurochemical research. — 2010. — V. 35, № 9. — P. 1302-1314.
42. Rasheed N., Tyagi E., Ahmad A., Siripurapu K. B., Lahiri S., Shukla R., Palit G. Involvement of monoamines and proinflammatory cytokines in mediating the anti-stress effects of Panax quinquefolium // Journal of ethnopharmacology. — 2008. — V. 117, № 2. — P. 257-262.
43. Yi L.-T., Li J.-M., Li Y.-C., Pan Y., Xu Q., Kong L.-D. Antidepressant-like behavioral and neurochemical effects of the citrus-associated chemical apigenin // Life sciences. — 2008. — V. 82, № 13-14. — P. 741-751.
44. Sheikh N., Ahmad A., Siripurapu K. B., Kuchibhotla V. K., Singh S., Palit G. Effect of Bacopa monniera on stress induced changes in plasma corticosterone and brain monoamines in rats // Journal of ethnopharmacology. — 2007. — V. 111, № 3. — P. 671-676.
45. Vancassel S., Leman S., Hanonick L., Denis S., Roger J., Nollet M., Bodard S., Kousignian I., Belzung C., Chalon S. n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation reverses stress-induced modifications on brain monoamine levels in mice // Journal of Lipid Research. — 2008. — V. 49, № 2. — P. 340-348.
46. Yang L.-M., Hu B., Xia Y.-H., Zhang B.-L., Zhao H. Lateral habenula lesions improve the behavioral response in depressed rats via increasing the serotonin level in dorsal raphe nucleus // Behavioural brain research. — 2008. — V. 188, № 1. — P. 84-90.
47. Yalcin I., Coubard S., Bodard S., Chalon S., Belzung C. Effects of 5, 7-dihydroxytryptamine lesion of the dorsal raphe nucleus on the antidepressant-like action of tramadol in the unpredictable chronic mild stress in mice // Psychopharmacology. — 2008. — V. 200, № 4. — P. 497-507.
48. Bekris S., Antoniou K., Daskas S., Papadopoulou-Daifoti Z. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains // Behavioural brain research. — 2005. — V. 161, № 1. — P. 45-59.
49. Dalla C., Antoniou K., Drossopoulou G., Xagoraris M., Kokras N., Sfikakis A., Papadopoulou-Daifoti Z. Chronic mild stress impact: are females more vulnerable? // Neuroscience. — 2005. — V. 135, № 3. — P. 703-714.
50. Johnson B. N., Yamamoto B. K. Chronic stress enhances the corticosterone response and neurotoxicity to+ 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA): the role of ambient temperature // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2010. — V. 335, № 1. — P. 180-189.
51. Laugeray A., Launay J.-M., Callebert J., Surget A., Belzung C., Barone P. R. Peripheral and cerebral metabolic abnormalities of the tryptophan–kynurenine pathway in a murine model of major depression // Behavioural brain research. — 2010. — V. 210, № 1. — P. 84-91.
52. Johnson B. N., Yamamoto B. K. Chronic unpredictable stress augments+ 3, 4-methylenedioxymethamphetamine-induced monoamine depletions: the role of corticosterone // Neuroscience. — 2009. — V. 159, № 4. — P. 1233-1243.

53. Li J.-M., Kong L.-D., Wang Y.-M., Cheng C. H., Zhang W.-Y., Tan W.-Z. Behavioral and biochemical studies on chronic mild stress models in rats treated with a Chinese traditional prescription Banxia-houpu decoction // Life sciences. — 2003. — V. 74, № 1. — P. 55-73.
54. Häidkind R., Eller M., Harro M., Kask A., Rinken A., Oreland L., Harro J. Effects of partial locus coeruleus denervation and chronic mild stress on behaviour and monoamine neurochemistry in the rat // European neuropsychopharmacology. — 2003. — V. 13, № 1. — P. 19-28.
55. Patterson Z., Ducharme R., Anisman H., Abizaid A. Altered metabolic and neurochemical responses to chronic unpredictable stressors in ghrelin receptor-deficient mice // European Journal of Neuroscience. — 2010. — V. 32, № 4. — P. 632-639.
56. Tannenbaum B., Anisman H. Impact of chronic intermittent challenges in stressor-susceptible and resilient strains of mice // Biological Psychiatry. — 2003. — V. 53, № 4. — P. 292-303.
57. Surget A., Wang Y., Leman S., Ibarguen-Vargas Y., Edgar N., Griebel G., Belzung C., Sibille E. Corticolimbic Transcriptome Changes are State-Dependent and Region-Specific in a Rodent Model of Depression and of Antidepressant Reversal // Neuropsychopharmacology. — 2009. — 2009/05/01. — V. 34, № 6. — P. 1363-1380.
58. Wang Y., Jiang H., Meng H., Lu J., Li J., Zhang X., Yang X., Zhao B., Sun Y., Bao T. Genome-wide transcriptome analysis of hippocampus in rats indicated that TLR/NLR signaling pathway was involved in the pathogenisis of depressive disorder induced by chronic restraint stress // Brain Research Bulletin. — 2017. — 2017/09/01/. — V. 134. — P. 195-204.
59. Lisowski P., Juszczak G. R., Goscik J., Wieczorek M., Zwierzchowski L., Swiergiel A. H. Effect of chronic mild stress on hippocampal transcriptome in mice selected for high and low stress-induced analgesia and displaying different emotional behaviors // European Neuropsychopharmacology. — 2011. — 2011/01/01/. — V. 21, № 1. — P. 45-62.
60. Shen M., Song Z., Wang J.-H. microRNA and mRNA profiles in the amygdala are associated with stress-induced depression and resilience in juvenile mice // Psychopharmacology. — 2019. — 2019/07/01. — V. 236, № 7. — P. 2119-2142.
61. Datson N. A., Speksnijder N., Mayer J. L., Steenbergen P. J., Korobko O., Goeman J., de Kloet E. R., Joëls M., Lucassen P. J. The transcriptional response to chronic stress and glucocorticoid receptor blockade in the hippocampal dentate gyrus // Hippocampus. — 2012. — 2012/02/01. — V. 22, № 2. — P. 359-371.
62. Kudryavtseva N. N., Smagin D. A., Kovalenko I. L., Galyamina A. G., Vishnivetskaya G. B., Babenko V. N., Orlov Y. L. Serotonergic genes in the development of anxiety/depression-like state and pathology of aggressive behavior in male mice: RNA-seq data // Molecular Biology. — 2017. — 2017/03/01. — V. 51, № 2. — P. 251-262.
63. Andrus B. M., Blizinsky K., Vedell P. T., Dennis K., Shukla P. K., Schaffer D. J., Radulovic J., Churchill G. A., Redei E. E. Gene expression patterns in the hippocampus and amygdala of endogenous depression and chronic stress models // Molecular Psychiatry. — 2012. — 2012/01/01. — V. 17, № 1. — P. 49-61.
64. Carboni L., Marchetti L., Lauria M., Gass P., Vollmayr B., Redfern A., Jones L., Razzoli M., Malki K., Begni V., Riva M. A., Domenici E., Caberlotto L., Mathé A. A. Cross-species evidence from human and rat brain transcriptome for growth factor signaling pathway dysregulation in major depression // Neuropsychopharmacology. — 2018. — 2018/09/01. — V. 43, № 10. — P. 2134-2145.
65. Misslin R., Belzung C., Vogel E. Behavioural validation of a light/dark choice procedure for testing anti-anxiety agents // Behavioural processes. — 1989. — V. 18, № 1-3. — P. 119-132.
66. Gould T. D., Dao D. T., Kovacsics C. E. The open field test // Mood and anxiety related phenotypes in miceSpringer, 2009. — P. 1-20.
67. Walf A. A., Frye C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents // Nature protocols. — 2007. — V. 2, № 2. — P. 322-328.

68. Ducottet C., Belzung C. Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice // Physiology & behavior. — 2004. — V. 81, № 3. — P. 417-426.
69. Katz R. J., Roth K. A., Carroll B. J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression //. — 1981.
70. Nezlek J. B., Imbrie M., Shean G. D. Depression and everyday social interaction // Journal of personality and social psychology. — 1994. — V. 67, № 6. — P. 1101.
71. Steger M. F., Kashdan T. B. Depression and everyday social activity, belonging, and well-being // Journal of counseling psychology. — 2009. — V. 56, № 2. — P. 289.
72. Beery A. K., Kaufer D. Stress, social behavior, and resilience: insights from rodents // Neurobiology of stress. — 2015. — V. 1. — P. 116-127.
73. Albers H. E. The regulation of social recognition, social communication and aggression: vasopressin in the social behavior neural network // Hormones and behavior. — 2012. — V. 61, № 3. — P. 283-292.
74. Robinson G. E., Fernald R. D., Clayton D. F. Genes and social behavior // science. — 2008. — V. 322, № 5903. — P. 896-900.
75. Kompagne H., Bárdos G., Szénási G., Gacsályi I., Hársing L. G., Lévay G. Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats // Behavioural brain research. — 2008. — V. 193, № 2. — P. 311-314.
76. Gambarana C., Scheggi S., Tagliamonte A., Tolu P., De Montis M. G. Animal models for the study of antidepressant activity // Brain Research Protocols. — 2001. — V. 7, № 1. — P. 11-20.
77. Holanda V. A., Medeiros I. U., Asth L., Guerrini R., Gavioli E. C. Antidepressant activity of nociceptin/orphanin FQ receptor antagonists in the mouse learned helplessness // Psychopharmacology. — 2016. — V. 233, № 13. — P. 2525-2532.
78. Shirayama Y., Yang C., Zhang J.-c., Ren Q., Yao W., Hashimoto K. Alterations in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its precursor proBDNF in the brain regions of a learned helplessness rat model and the antidepressant effects of a TrkB agonist and antagonist // European Neuropsychopharmacology. — 2015. — V. 25, № 12. — P. 2449-2458.
79. Porsolt R. D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // Nature. — 1977. — V. 266, № 5604. — P. 730-732.
80. Rolim H. M. L., Freitas R. M., Santos-Magalhães N. S. Antidepressant-like activity of liposomal formulation containing nimodipine treatment in the tail suspension test, forced swim test and MAOB activity in mice // Brain research. — 2016. — V. 1646. — P. 235-240.
81. Voiculescu S., Rosca A., Zeca V., Zagrean L., Zagrean A. Impact of maternal melatonin suppression on forced swim and tail suspension behavioral despair tests in adult offspring // Journal of medicine and life. — 2015. — V. 8, № 2. — P. 202.
82. Landgraf D., Long J. E., Proulx C. D., Barandas R., Malinow R., Welsh D. K. Genetic disruption of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus causes helplessness, behavioral despair, and anxiety-like behavior in mice // Biological psychiatry. — 2016. — V. 80, № 11. — P. 827-835.
83. Castagné V., Moser P., Porsolt R. D. Behavioral assessment of antidepressant activity in rodents // Methods of Behavior Analysis in Neuroscience. 2nd editionCRC Press/Taylor & Francis, 2009.
84. Demers M., Suidan G. L., Andrews N., Martinod K., Cabral J. E., Wagner D. D. Solid peripheral tumor leads to systemic inflammation, astrocyte activation and signs of behavioral despair in mice // PloS one. — 2018. — V. 13, № 11. — P. e0207241.
85. Kordjazy N., Haj-Mirzaian A., Amiri S., Ostadhadi S., Amini-Khoei H., Dehpour A. R. Involvement of N-methyl-d-aspartate receptors in the antidepressant-like effect of 5-hydroxytryptamine 3 antagonists in mouse forced swimming test and tail suspension test // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2016. — V. 141. — P. 1-9.
86. Qi C.-C., Shu Y.-M., Chen F.-H., Ding Y.-Q., Zhou J.-N. Sensitivity during the forced swim test is a key factor in evaluating the antidepressant effects of abscisic acid in mice // Behavioural brain research. — 2016. — V. 300. — P. 106-113.

87. Commons K. G., Cholanians A. B., Babb J. A., Ehlinger D. G. The rodent forced swim test measures stress-coping strategy, not depression-like behavior // ACS chemical neuroscience. — 2017. — V. 8, № 5. — P. 955-960.
88. Molendijk M. L., de Kloet E. R. Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression // Psychoneuroendocrinology. — 2015. — V. 62. — P. 389-391.
89. Nestler E. J., Hyman S. E. Animal models of neuropsychiatric disorders // Nature neuroscience. — 2010. — V. 13, № 10. — P. 1161.
90. Pytka K., Partyka A., Jastrzębska-Więsek M., Siwek A., Głuch-Lutwin M., Mordyl B., Kazek G., Rapacz A., Olczyk A., Gałuszka A. Antidepressant-and Anxiolytic-Like Effects of New Dual 5-HT 1A and 5-HT 7 Antagonists in Animal Models // PLoS One. — 2015. — V. 10, № 11. — P. e0142499.
91. Nestler E. J., Gould E., Manji H. Preclinical models: status of basic research in depression // Biological psychiatry. — 2002. — V. 52, № 6. — P. 503-528.
92. Yan H.-C., Cao X., Das M., Zhu X.-H., Gao T.-M. Behavioral animal models of depression // Neuroscience bulletin. — 2010. — V. 26, № 4. — P. 327-337.
93. Keles R., Hazar-Yavuz A. N., Yildiz S., Cam M., Sener G. Dapagliflozin attenuates anxiolytic-like behavior of rats in open field test // European Neuropsychopharmacology. — 2019. — V. 29. — P. S201-S202.
94. Walsh R. N., Cummins R. A. The open-field test: a critical review // Psychological bulletin. — 1976. — V. 83, № 3. — P. 482.
95. Thierry B., Steru L., Simon P., Porsolt R. The tail suspension test: ethical considerations // Psychopharmacology. — 1986. — V. 90, № 2. — P. 284-285.
96. Can A., Dao D. T., Arad M., Terrillion C. E., Piantadosi S. C., Gould T. D. The mouse forced swim test // JoVE (Journal of Visualized Experiments). — 2012. № 59. — P. e3638.
97. Cryan J. F., Markou A., Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs // Trends in pharmacological sciences. — 2002. — V. 23, № 5. — P. 238-245.
98. Slattery D. A., Cryan J. F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents // Nature protocols. — 2012. — V. 7, № 6. — P. 1009-1014.
99. Cryan J. F., Lucki I. Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine2C receptors // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2000. — V. 295, № 3. — P. 1120-1126.
100. Lucki I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs // Behavioural pharmacology. — 1997.
101. Petit-Demouliere B., Chenu F., Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity // Psychopharmacology. — 2005. — V. 177, № 3. — P. 245-255.
102. Steru L., Chermat R., Thierry B., Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice // Psychopharmacology. — 1985. — V. 85, № 3. — P. 367-370.
103. Cryan J. F., Mombereau C., Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2005. — V. 29, № 4-5. — P. 571-625.
104. Bernal-Morales B., Contreras C. M., Cueto-Escobedo J. Acute restraint stress produces behavioral despair in weanling rats in the forced swim test // Behavioural processes. — 2009. — V. 82, № 2. — P. 219-222.
105. Haj-Mirzaian A., Kordjazy N., Ostadhadi S., Amiri S., Haj-Mirzaian A., Dehpour A. Fluoxetine reverses the behavioral despair induced by neurogenic stress in mice: role of N-methyl-d-aspartate and opioid receptors // Canadian journal of physiology and pharmacology. — 2016. — V. 94, № 6. — P. 599-612.
106. Ostadhadi S., Haj-Mirzaian A., Nikoui V., Kordjazy N., Dehpour A. R. Involvement of opioid system in antidepressant-like effect of the cannabinoid CB 1 receptor inverse agonist AM-251 after

physical stress in mice // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. — 2016. — V. 43, № 2. — P. 203-212.
107. Furlanetti L. L., Coenen V. A., Aranda I. A., Döbrössy M. D. Chronic deep brain stimulation of the medial forebrain bundle reverses depressive-like behavior in a hemiparkinsonian rodent model // Experimental brain research. — 2015. — V. 233, № 11. — P. 3073-3085.
108. Medlej Y., Salah H., Wadi L., Saad S., Asdikian R., Karnib N., Ghazal D., Bashir B., Allam J., Obeid M. Overview on emotional behavioral testing in rodent models of pediatric epilepsy // Psychiatric disordersSpringer, 2019. — P. 345-367.
109. Baumans V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals // Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties. — 2005. — V. 24, № 2. — P. 503.
110. Carstens E., Moberg G. P. Recognizing pain and distress in laboratory animals // Ilar Journal. — 2000. — V. 41, № 2. — P. 62-71.
111. DiMasi J. A., Grabowski H. G., Hansen R. W. Innovation in the pharmaceutical industry: new estimates of R&D costs // Journal of health economics. — 2016. — V. 47. — P. 20-33.
112. Ferdowsian H. R., Gluck J. P. The Ethical Challenges of Animal Research: Honoring Henry Beecher's Approach to Moral Problems // Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics. — 2015. — V. 24, № 4. — P. 391-406.
113. Freires I. A., Sardi J. d. C. O., de Castro R. D., Rosalen P. L. Alternative animal and non-animal models for drug discovery and development: bonus or burden? // Pharmaceutical research. — 2017. — V. 34, № 4. — P. 681-686.
114. Solberg L. C., Horton T. H., Turek F. W. Circadian rhythms and depression: effects of exercise in an animal model // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. — 1999. — V. 276, № 1. — P. R152-R161.
115. Griebel G., Simiand J., Steinberg R., Jung M., Gully D., Roger P., Geslin M., Scatton B., Maffrand J.-P., Soubrie P. 4-(2-Chloro-4-methoxy-5-methylphenyl)-N-[(1S)-2-cyclopropyl-1-(3-fluoro-4-methylphenyl) ethyl] 5-methyl-N-(2-propynyl)-1, 3-thiazol-2-amine hydrochloride (SSR125543A), a potent and selective corticotrophin-releasing factor1 receptor antagonist. II. Characterization in rodent models of stress-related disorders // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2002. — V. 301, № 1. — P. 333-345.
116. Hendricks S., Wieseler Frank J., Shing S., Sinclair S., Staup M. Effects of chronic mild stress on behavior in the forced swim test // Abstr Soc Neurosci. — V. 27 —, 2001. — P. 736.10.
117. Fujisaki C., Utsuyama M., Kuroda Y., Watanabe A., Seidler H., Watanabe S., Kitagawa M., Hirokawa K. An immnosuppressive drug, cyclosporine-A acts like anti-depressant for rats under unpredictable chronic stress // Journal of medical and dental sciences. — 2003. — V. 50, № 1. — P. 93-100.
118. Ma X.-C., Dang Y.-H., Jia M., Ma R., Wang F., Wu J., Gao C.-G., Hashimoto K. Long-lasting antidepressant action of ketamine, but not glycogen synthase kinase-3 inhibitor SB216763, in the chronic mild stress model of mice // PLoS One. — 2013. — V. 8, № 2.
119. Ma X.-c., Jiang D., Jiang W.-h., Wang F., Jia M., Wu J., Hashimoto K., Dang Y.-h., Gao C.-g. Social isolation-induced aggression potentiates anxiety and depressive-like behavior in male mice subjected to unpredictable chronic mild stress // PloS one. — 2011. — V. 6, № 6.
120. Sikiric P., Šeparovic J., Buljat G., Anic T., Stancic-Rokotov D., Mikus D., Marovic A., Prkacin I., Duplancic B., Zoricic I. The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide BPC 157 in Porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants // Journal of Physiology-Paris. — 2000. — V. 94, № 2. — P. 99-104.
121. Badenhorst C. Behavioral endophenotypes of chronic unpredictable stress; Lethbridge, Alta.: Universtiy of Lethbridge, Department of Neuroscience, 2018.
122. José Jaime H.-P., Venus B.-C., Graciela J.-R., Tania H.-H. O., Lucía M.-M. Young-adult male rats' vulnerability to chronic mild stress is reflected by anxious-like instead of depressive-like behaviors // Neuroscience journal. — 2016. — V. 2016.

123. Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS // Neuropsychobiology. — 2005. — V. 52, № 2. — P. 90-110.
124. Кротова Н., Лакстыгал А. М., Таранов А., Ильин Н., Бытов М. В., Волгин А. Д., Амстиславская Т. Г., Демин К., Калуев А. В. Зебраданио (zebrafish) как новая перспективная модель в трансляционной нейробиологии // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. — 2019. — Т. 105, № 11. — С. 1417–1435.
125. Бабченко В. Я., Белова А. С., Баширзаде А. А. О., Тихонова М. А., Демин К. А., Забегалов К. Н., Петерсен Е. В., Калуев А. В., Амстиславская Т. Г. Модели черепно-мозговой травмы у зебраданио (Zebrafish, Danio rerio) // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. — 2021. — Т. 107, № 9. — С. 1059–1076.
126. Stewart A. M., Braubach O., Spitsbergen J., Gerlai R., Kalueff A. V. Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside // Trends in neurosciences. — 2014. — V. 37, № 5. — P. 264-278.
127. Kalueff A. V., Echevarria D. J., Stewart A. M. Gaining translational momentum: more zebrafish models for neuroscience research Elsevier, 2014.
128. 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 animal. — 2017. — V. 46, № 10. — P. 378-387.
129. Goldsmith P. Zebrafish as a pharmacological tool: the how, why and when // Current opinion in pharmacology. — 2004. — V. 4, № 5. — P. 504-512.
130. Pelegri F. Maternal factors in zebrafish development // Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists. — 2003. — V. 228, № 3. — P. 535-554.
131. Roush W. Zebrafish embryology builds better model vertebrate // Science. — 1996. — V. 272, № 5265. — P. 1103-1103.
132. Kimmel C. B. Genetics and early development of zebrafish // Trends in Genetics. — 1989. — V. 5. — P. 283-288.
133. Nasevicius A., Ekker S. C. Effective targeted gene ‘knockdown’in zebrafish // Nature genetics. — 2000. — V. 26, № 2. — P. 216-220.
134. White R., Rose K., Zon L. Zebrafish cancer: the state of the art and the path forward // Nature reviews Cancer. — 2013. — V. 13, № 9. — P. 624-636.
135. Feitsma H., Cuppen E. Zebrafish as a cancer model // Molecular Cancer Research. — 2008. — V. 6, № 5. — P. 685-694.
136. Amatruda J. F., Shepard J. L., Stern H. M., Zon L. I. Zebrafish as a cancer model system // Cancer cell. — 2002. — V. 1, № 3. — P. 229-231.
137. 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 research. — 2000. — V. 10, № 9. — P. 1351-1358.
138. 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. — 2013. — V. 496, № 7446. — P. 498-503.
139. Rico E., Rosemberg D., Seibt K., Capiotti K., Da Silva R., Bonan C. Zebrafish neurotransmitter systems as potential pharmacological and toxicological targets // Neurotoxicology and teratology. — 2011. — V. 33, № 6. — P. 608-617.
140. Panula P., Sallinen V., Sundvik M., Kolehmainen J., Torkko V., Tiittula A., Moshnyakov M., Podlasz P. Modulatory neurotransmitter systems and behavior: towards zebrafish models of neurodegenerative diseases // Zebrafish. — 2006. — V. 3, № 2. — P. 235-247.
141. 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 // Neurobiology of disease. — 2010. — V. 40, № 1. — P. 46-57.

142. Neuroanatomy of the zebrafish brain: a topological atlas. / Wulliman M. F., Rupp B., Reichert H.: Birkhäuser, 2012.
143. 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 // Behavioural brain research. — 2009. — V. 205, № 1. — P. 38-44.
144. Steenbergen P. J., Richardson M. K., Champagne D. L. The use of the zebrafish model in stress research // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2011. — V. 35, № 6. — P. 1432-1451.
145. Demin K. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Lakstygal A. M., Volgin A. D., de Abreu M. S., Strekalova T., Kalueff A. V. Understanding neurobehavioral effects of acute and chronic stress in zebrafish // Stress. — 2021. — V. 24, № 1. — P. 1-18.
146. Crofton K. M., Mundy W. R., Shafer T. J. Developmental neurotoxicity testing: a path forward // Congenital anomalies. — 2012. — V. 52, № 3. — P. 140-146.
147. de Abreu M. S., Giacomini A. C., Echevarria D. J., Kalueff A. V. Legal aspects of zebrafish neuropharmacology and neurotoxicology research // Regulatory Toxicology and Pharmacology. — 2018.
148. Kari G., Rodeck U., Dicker A. P. Zebrafish: an emerging model system for human disease and drug discovery // Clinical Pharmacology & Therapeutics. — 2007. — V. 82, № 1. — P. 70-80.
149. Ton C., Lin Y., Willett C. Zebrafish as a model for developmental neurotoxicity testing // Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology. — 2006. — V. 76, № 7. — P. 553-567.
150. Wendelaar Bonga S. E. The stress response in fish // Physiological reviews. — 1997. — V. 77, № 3. — P. 591-625.
151. Barcellos L. J. G., Ritter F., Kreutz L. C., Quevedo R. M., da Silva L. B., Bedin A. C., Finco J., Cericato L. Whole-body cortisol increases after direct and visual contact with a predator in zebrafish, Danio rerio // Aquaculture. — 2007. — V. 272, № 1-4. — P. 774-778.
152. Gerlai R. High-throughput behavioral screens: the first step towards finding genes involved in vertebrate brain function using zebrafish // Molecules. — 2010. — V. 15, № 4. — P. 2609-2622.
153. Lessman C. A. The developing zebrafish (Danio rerio): A vertebrate model for high-throughput screening of chemical libraries // Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews. — 2011. — V. 93, № 3. — P. 268-280.
154. Manuel R., Gorissen M., Zethof J., Ebbesson L. O., van de Vis H., Flik G., van den Bos R. Unpredictable chronic stress decreases inhibitory avoidance learning in Tuebingen long-fin zebrafish: stronger effects in the resting phase than in the active phase // Journal of Experimental Biology. — 2014. — V. 217, № 21. — P. 3919-3928.
155. Zimmermann F., Altenhofen S., Kist L., Leite C., Bogo M., Cognato G., Bonan C. Unpredictable chronic stress alters adenosine metabolism in zebrafish brain // Molecular neurobiology. — 2016. — V. 53, № 4. — P. 2518-2528.
156. Rambo C. L., Mocelin R., Marcon M., Villanova D., Koakoski G., de Abreu M. S., Oliveira T. A., Barcellos L. J., Piato A. L., Bonan C. D. Gender differences in aggression and cortisol levels in zebrafish subjected to unpredictable chronic stress // Physiology & behavior. — 2017. — V. 171. — P. 50-54.
157. Marcon M., Herrmann A. P., Mocelin R., Rambo C. L., Koakoski G., Abreu M. S., Conterato G. M., Kist L. W., Bogo M. R., Zanatta L. Prevention of unpredictable chronic stress-related phenomena in zebrafish exposed to bromazepam, fluoxetine and nortriptyline // Psychopharmacology. — 2016. — V. 233, № 21-22. — P. 3815-3824.
158. Piato Â. L., Capiotti K. M., Tamborski A. R., Oses 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): behavioral and physiological responses // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2011. — V. 35, № 2. — P. 561-567.

159. Champagne D. L., Hoefnagels C. C., de Kloet R. E., Richardson M. K. Translating rodent behavioral repertoire to zebrafish (Danio rerio): relevance for stress research // Behavioural brain research. — 2010. — V. 214, № 2. — P. 332-342.
160. Blaser R., Gerlai R. Behavioral phenotyping in zebrafish: comparison of three behavioral quantification methods // Behavior research methods. — 2006. — V. 38, № 3. — P. 456-469.
161. Demin K. A., Kolesnikova T. O., Galstyan D. S., Krotova N. A., Ilyin N. P., Derzhavina K. A., Levchenko N. A., Strekalova T., de Abreu M. S., Petersen E. V. Modulation of behavioral and neurochemical responses of adult zebrafish by fluoxetine, eicosapentaenoic acid and lipopolysaccharide in the prolonged chronic unpredictable stress model // Scientific reports. — 2021. — V. 11, № 1. — P. 1-15.
162. Levin E. D., Bencan Z., Cerutti D. T. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish // Physiology & behavior. — 2007. — V. 90, № 1. — P. 54-58.
163. 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 // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2018. — V. 81. — P. 384-394.
164. 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. — 2013. — V. 8, № 5.
165. López-Patiño M. A., Yu L., Cabral H., Zhdanova I. V. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish // Physiology & behavior. — 2008. — V. 93, № 1-2. — P. 160-171.
166. Wong K., Elegante M., Bartels B., Elkhayat S., Tien D., Roy S., Goodspeed J., Suciu C., Tan J., Grimes C. Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (Danio rerio) // Behavioural brain research. — 2010. — V. 208, № 2. — P. 450-457.
167. Gerlai R., Lee V., Blaser R. Effects of acute and chronic ethanol exposure on the behavior of adult zebrafish (Danio rerio) // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2006. — V. 85, № 4. — P. 752-761.
168. Peitsaro N., Kaslin J., Anichtchik O. V., Panula P. Modulation of the histaminergic system and behaviour by α-fluoromethylhistidine in zebrafish // Journal of neurochemistry. — 2003. — V. 86, № 2. — P. 432-441.
169. 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 // Zebrafish neurobehavioral protocolsSpringer, 2011. — P. 157-167.
170. Maximino C., da Silva A. W. B., Gouveia Jr A., Herculano A. M. Pharmacological analysis of zebrafish (Danio rerio) scototaxis // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2011. — V. 35, № 2. — P. 624-631.
171. Miller N., Gerlai R. Quantification of shoaling behaviour in zebrafish (Danio rerio) // Behavioural brain research. — 2007. — V. 184, № 2. — P. 157-166.
172. Miller N. Y., Gerlai R. Shoaling in zebrafish: what we don't know // Reviews in the Neurosciences. — 2011. — V. 22, № 1. — P. 17-25.
173. Kysil E. V., Meshalkina D. A., Frick E. E., Echevarria D. J., Rosemberg D. B., Maximino C., Lima M. G., Abreu M. S., Giacomini A. C., Barcellos L. J. Comparative analyses of zebrafish anxiety-like behavior using conflict-based novelty tests // Zebrafish. — 2017. — V. 14, № 3. — P. 197-208.
174. Maximino C., de Brito T. M., da Silva Batista A. W., Herculano A. M., Morato S., Gouveia Jr A. Measuring anxiety in zebrafish: a critical review // Behavioural brain research. — 2010. — V. 214, № 2. — P. 157-171.
175. Stewart A., Kadri F., DiLeo J., Min Chung K., Cachat J., Goodspeed J., Suciu C., Roy S., Gaikwad S., Wong K. The developing utility of zebrafish in modeling neurobehavioral disorders // International Journal of Comparative Psychology. — 2010. — V. 23, № 1.

176. Stewart A., Gaikwad S., Kyzar E., Green J., Roth A., Kalueff A. V. Modeling anxiety using adult zebrafish: a conceptual review // Neuropharmacology. — 2012. — Jan. — V. 62, № 1. — P. 135-43.
177. Blaser R., Chadwick L., McGinnis G. Behavioral measures of anxiety in zebrafish (Danio rerio) // Behavioural brain research. — 2010. — V. 208, № 1. — P. 56-62.
178. Carola V., D'Olimpio F., Brunamonti E., Mangia F., Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice // Behavioural brain research. — 2002. — V. 134, № 1-2. — P. 49-57.
179. Kulesskaya N., Voikar V. Assessment of mouse anxiety-like behavior in the light–dark box and open-field arena: role of equipment and procedure // Physiology & behavior. — 2014. — V. 133. — P. 30-38.
180. de Abreu M. S., Friend A. J., Demin K. A., Amstislavskaya T. G., Bao W., Kalueff A. V. Zebrafish models: do we have valid paradigms for depression? // Journal of pharmacological and toxicological methods. — 2018.
181. Buynitsky T., Mostofsky D. I. Restraint stress in biobehavioral research: recent developments // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2009. — V. 33, № 7. — P. 1089-1098.
182. Ghisleni G., Capiotti K. M., Da Silva R. S., Oses J. P., Piato Â. L., Soares V., Bogo M. R., Bonan C. D. The role of CRH in behavioral responses to acute restraint stress in zebrafish // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2012. — V. 36, № 1. — P. 176-182.
183. 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. — 2017. — Jul. — V. 62. — P. 27-33.
184. Genario R., Giacomini A. C., Demin K. A., dos Santos B. E., Marchiori N. I., Volgin A. D., Bashirzade A., Amstislavskaya T. G., de Abreu M. S., Kalueff A. V. The evolutionarily conserved role of melatonin in CNS disorders and behavioral regulation: Translational lessons from zebrafish // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2019. — V. 99. — P. 117-127.
185. 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. — May 8.
186. Volgin A. D., Yakovlev O. A., Demin K. A., Alekseeva P. A., Kalueff A. V. Acute behavioral effects of deliriant hallucinogens atropine and scopolamine in adult zebrafish // Behavioural brain research. — 2019. — V. 359. — P. 274-280.
187. Khan K. M., Collier A. D., Meshalkina D. A., Kysil E. V., Khatsko S. L., Kolesnikova T., Morzherin Y. Y., Warnick J. E., Kalueff A. V., Echevarria D. J. Zebrafish models in neuropsychopharmacology and CNS drug discovery // British journal of pharmacology. — 2017. — V. 174, № 13. — P. 1925-1944.
188. Genario R., de Abreu M. S., Giacomini A. C., Demin K. A., Kalueff A. V. Sex differences in behavior and neuropharmacology of zebrafish // European Journal of Neuroscience. — 2019.
189. Serikuly N., Alpyshov E. T., Wang D., Wang J., Yang L., Hu G., Yan D., Demin K. A., Kolesnikova T. O., Galstyan D. Effects of acute and chronic arecoline in adult zebrafish: Anxiolytic-like activity, elevated brain monoamines and the potential role of microglia // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2020. — P. 109977.
190. Wang D., Yang L., Wang J., Hu G., Liu Z., Yan D., Serikuly N., Alpyshov E., Demin K. A., Galstyan D. Behavioral and physiological effects of acute and chronic kava exposure in adult zebrafish // Neurotoxicology and Teratology. — 2020. — P. 106881.
191. Demin K. A., Lakstygal A. M., Chernysh M. V., Krotova N. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Seredinskaya M. V., Tagawa N., Savva A. K., Mor M. S. The zebrafish tail immobilization (ZTI) test as a new tool to assess stress-related behavior and a potential screen for drugs affecting despair-like states // Journal of Neuroscience Methods. — 2020. — P. 108637.

192. Demin K. A., Lakstygal A. M., Krotova N. A., Masharsky A., Tagawa N., Chernysh M. V., Ilyin N. P., Taranov A. S., Galstyan D. S., Derzhavina K. A. Understanding complex dynamics of behavioral, neurochemical and transcriptomic changes induced by prolonged chronic unpredictable stress in zebrafish // Scientific reports. — 2020. — V. 10, № 1. — P. 1-20.
193. Demin K. A., Kolesnikova T. O., Galstyan D. S., Krotova N. A., Ilyin N. P., Derzhavina K. A., Seredinskaya M., Kositsyn Y. M., Sorokin D. V., Nerush M. O., Khaybaev A.-A. S., Pushkareva S. A., Strekalova T., Masharsky A., Kalueff A. V. Modulation of behavioral and hippocampal transcriptomic responses in rat prolonged chronic unpredictable stress model by fluoxetine, eicosapentaenoic acid and lipopolysaccharide // bioRxiv. — 2021. — P. 2021.12.05.471274.
194. Dubbelaar M., Misrielal C., Bajramovic J., Burm S., Zuiderwijk-Sick E., Brouwer N., Grit C., Kooistra S., Shinjo S., Marie S. Transcriptional profiling of macaque microglia reveals an evolutionary preserved gene expression program // Brain, Behavior, & Immunity-Health. — 2021. — V. 15. — P. 100265.
195. Connolly N. P., Shetty A. C., Stokum J. A., Hoeschele I., Siegel M. B., Miller C. R., Kim A. J., Ho C.-Y., Davila E., Simard J. M. Cross-species transcriptional analysis reveals conserved and host-specific neoplastic processes in mammalian glioma // Scientific reports. — 2018. — V. 8, № 1. — P. 1-15.
196. The zebrafish book: a guide for the laboratory use of zebrafish (Danio rerio). / Westerfield M.: University of Oregon press, 2007.
197. Watts S. A., Powell M., D'Abramo L. R. Fundamental Approaches to the Study of Zebrafi sh Nutrition // ILAR journal. — 2012. — V. 53, № 2. — P. 144-160.
198. Xu X., Scott-Scheiern T., Kempker L., Simons K. Active avoidance conditioning in zebrafish (Danio rerio) // Neurobiology of learning and memory. — 2007. — V. 87, № 1. — P. 72-77.
199. Agetsuma M., Aizawa H., Aoki T., Nakayama R., Takahoko M., Goto M., Sassa T., Amo R., Shiraki T., Kawakami K. The habenula is crucial for experience-dependent modification of fear responses in zebrafish // Nature neuroscience. — 2010. — V. 13, № 11. — P. 1354.
200. 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 // Behavioural brain research. — 2013. — V. 236. — P. 258-269.
201. Kyzar E. J., Kalueff A. V. Exploring hallucinogen pharmacology and psychedelic medicine with zebrafish models // Zebrafish. — 2016. — V. 13, № 5. — P. 379-390.
202. Zhang S., Liu X., Sun M., Zhang Q., Li T., Li X., Xu J., Zhao X., Chen D., Feng X. Reversal of reserpine-induced depression and cognitive disorder in zebrafish by sertraline and Traditional Chinese Medicine (TCM) // Behavioral and Brain Functions. — 2018. — V. 14, № 1. — P. 13.
203. Shabanov P. D., Lebedev V. A., Lebedev A. A., Bychkov E. R. 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. — V. 15, № 3. — P. 57-63.
204. Cipriani A., Furukawa T. A., Geddes J. R., Malvini L., Signoretti A., McGuire H., Churchill R., Nakagawa A., Barbui C. Does randomized evidence support sertraline as first-line antidepressant for adults with acute major depression? A systematic review and meta-analysis, 2008.
205. Kasper S., Zivkov M., Roes K., Pols A. Pharmacological treatment of severely depressed patients: a meta-analysis comparing efficacy of mirtazapine and amitriptyline // European neuropsychopharmacology. — 1997. — V. 7, № 2. — P. 115-124.
206. Caldarone B., Karthigeyan K., Harrist A., Hunsberger J., Wittmack E., King S., Jatlow P., Picciotto M. Sex differences in response to oral amitriptyline in three animal models of depression in C57BL/6J mice // Psychopharmacology. — 2003. — V. 170, № 1. — P. 94-101.

207. Kurt M., Arik A. C., Celik S. The effects of sertraline and fluoxetine on anxiety in the elevated plus-maze test // Journal of basic and clinical physiology and pharmacology. — 2000. — V. 11, № 2. — P. 173-180.
208. Maskell P. D., De Paoli G., Seetohul L. N., Pounder D. J. Phenazepam: the drug that came in from the cold // Journal of forensic and legal medicine. — 2012. — V. 19, № 3. — P. 122-125.
209. Kriikku P., Wilhelm L., Rintatalo J., Hurme J., Kramer J., Ojanperä I. Phenazepam abuse in Finland: findings from apprehended drivers, post-mortem cases and police confiscations // Forensic science international. — 2012. — V. 220, № 1-3. — P. 111-117.
210. Epstein O., Voronina T., Molodavkin G., Belopol'skaya M., Kheyfets I., Dugina J., Sergeeva S. Study of bipathic effect of phenazepam // Bulletin of experimental biology and medicine. — 2007. — V. 144, № 4. — P. 536-538.
211. Molodavkin G., Voronina T., Chernyavskaya L., Burlakova E., Khorseva N., Seredenin S. Pharmacological activity of phenazepam and flunitrazepam in ultralow doses // Bulletin of experimental biology and medicine. — 2003. — V. 135, № 7. — P. 39-41.
212. Griessner J., Pasieka M., Böhm V., Grössl F., Kaczanowska J., Pliota P., Kargl D., Werner B., Kaouane N., Strobelt S. Central amygdala circuit dynamics underlying the benzodiazepine anxiolytic effect // Molecular psychiatry. — 2018. — P. 1-11.
213. Stock H., Foradori C., Ford K., Wilson M. A. A lack of tolerance to the anxiolytic effects of diazepam on the plus-maze: comparison of male and female rats // Psychopharmacology. — 2000. — V. 147, № 4. — P. 362-370.
214. Eckstrand K. L., Travis M. J., Forbes E. E., Phillips M. L. Sex Differences and Personalized Psychiatric Care // Biological psychiatry. — 2016. — V. 80, № 10. — P. e81-e83.
215. Jalnapurkar I., Allen M., Pigott T. Sex differences in anxiety disorders: A review // J Psychiatry Depress Anxiety. — 2018. — V. 4. — P. 012.
216. Luine V., Gomez J., Beck K., Bowman R. Sex differences in chronic stress effects on cognition in rodents // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2017. — V. 152. — P. 13-19.
217. Leger M., Neill J. C. A systematic review comparing sex differences in cognitive function in schizophrenia and in rodent models for schizophrenia, implications for improved therapeutic strategies // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2016. — V. 68. — P. 979-1000.
218. Demin K. A., Lakstygal A. M., Alekseeva P. A., Sysoev M., de Abreu M. S., Alpyshov E. T., Serikuly N., Wang D., Wang M., Tang Z. The role of intraspecies variation in fish neurobehavioral and neuropharmacological phenotypes in aquatic models // Aquatic toxicology. — 2019.
219. Volgin A. D., Yakovlev O. A., Demin K. A., Abreu M. S., Alekseeva P. A., Friend A. J., Lakstygal A. M., Amstislavskaya T. G., Bao W., Song C., Kalueff A. V. Zebrafish models for personalized psychiatry: Insights from individual, strain and sex differences, and modeling gene x environment interactions // Journal of Neuroscience Research. — 2018. — V. 0, № 0.
220. Gupta T., Mullins M. C. Dissection of organs from the adult zebrafish // JoVE (Journal of Visualized Experiments). — 2010. № 37. — P. e1717.
221. Kafkafi N., Agassi J., Chesler E. J., Crabbe J. C., Crusio W. E., Eilam D., Gerlai R., Golani I., Gomez-Marin A., Heller R., Iraqi F., Jaljuli I., Karp N. A., Morgan H., Nicholson G., Pfaff D. W., Richter S. H., Stark P. B., Stiedl O., Stodden V., Tarantino L. M., Tucci V., Valdar W., Williams R. W., Würbel H., Benjamini Y. Reproducibility and replicability of rodent phenotyping in preclinical studies // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2018. — 2018/04/01/. — V. 87. — P. 218-232.
222. Guttinger S. The limits of replicability // European Journal for Philosophy of Science. — 2020. — V. 10, № 2. — P. 10.
223. Gerlai R. Reproducibility and replicability in zebrafish behavioral neuroscience research // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2019. — V. 178. — P. 30-38.

224. Bohlen M., Hayes E. R., Bohlen B., Bailoo J. D., Crabbe J. C., Wahlsten D. Experimenter effects on behavioral test scores of eight inbred mouse strains under the influence of ethanol // Behavioural brain research. — 2014. — V. 272. — P. 46-54.
225. Hånell A., Marklund N. Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research // Frontiers in behavioral neuroscience. — 2014. — V. 8. — P. 252.
226. Georgiou P., Zanos P., Jenne C., Highland J., Gerhard D., Duman R., Gould T. F102. Human Experimenter Sex Modulates Mouse Behavioral Responses to Stress and to the Antidepressant Ketamine // Biological Psychiatry. — 2018. — V. 83, № 9. — P. S277.
227. Noldus L. P., Spink A. J., Tegelenbosch R. A. EthoVision: a versatile video tracking system for automation of behavioral experiments // Behav Res Methods Instrum Comput. — 2001. — Aug. — V. 33, № 3. — P. 398-414.
228. Wong K., Stewart A., Gilder T., Wu N., Frank K., Gaikwad S., Suciu C., DiLeo J., Utterback E., Chang K. Modeling seizure-related behavioral and endocrine phenotypes in adult zebrafish // Brain research. — 2010. — V. 1348. — P. 209-215.
229. Stewart A. M., Kaluyeva A. A., Poudel M. K., Nguyen M., Song C., Kalueff A. V. Building zebrafish neurobehavioral phenomics: effects of common environmental factors on anxiety and locomotor activity // Zebrafish. — 2015. — V. 12, № 5. — P. 339-348.
230. Flügge G., van Kampen M., Mijnster M. J. Perturbations in brain monoamine systems during stress // Cell and tissue research. — 2004. — V. 315, № 1. — P. 1-14.
231. Dishman R. K. Brain monoamines, exercise, and behavioral stress: animal models // Medicine & Science in Sports & Exercise. — 1997. — V. 29, № 1. — P. 63-74.
232. Elhwuegi A. S. Central monoamines and their role in major depression // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2004. — V. 28, № 3. — P. 435-451.
233. Wang J., Li Y., Lai K., Zhong Q., Demin K. A., Kalueff A. V., Song C. High-glucose/high-cholesterol diet in zebrafish evokes diabetic and affective pathogenesis: The role of peripheral and central inflammation, microglia and apoptosis // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2020. — V. 96. — P. 109752.
234. Chernysh M., Demin K., Lakstygal A., Avdeeva V., Kalueff A. Fluoxetine exposure improves zebrafish performance in the aquatic tail immobilization test // 26th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference "Stress and Behavior" — Saint-Petersburg, Russia, 2019.
235. Krotova N., Timofeeva V., Demin K., Lakstygal A., Kalueff A. Effects of sertraline exposure on adult zebrafish in the aquatic tail immobilization test // 26th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference "Stress and Behavior" — Saint-Petersburg, Russia, 2019.
236. Armario A., Gil M., Marti J., Pol O., Balasch J. Influence of various acute stressors on the activity of adult male rats in a holeboard and in the forced swim test // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 1991. — V. 39, № 2. — P. 373-377.
237. Swiergiel A. H., Leskov I. L., Dunn A. J. Effects of chronic and acute stressors and CRF on depression-like behavior in mice // Behavioural brain research. — 2008. — V. 186, № 1. — P. 32-40.
238. Haj-Mirzaian A., Ostadhadi S., Kordjazy N., Dehpour A. R., Mehr S. E. Opioid/NMDA receptors blockade reverses the depressant-like behavior of foot shock stress in the mouse forced swimming test // European journal of pharmacology. — 2014. — V. 735. — P. 26-31.
239. Valvassori S. S., Budni J., Varela R. B., Quevedo J. Contributions of animal models to the study of mood disorders // Revista Brasileira de Psiquiatria. — 2013. — V. 35. — P. S121-S131.
240. Lucki I., Dalvi A., Mayorga A. J. Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice // Psychopharmacology. — 2001. — V. 155, № 3. — P. 315-322.

241. Thierry B., Steru L., Chermat R., Simon P. Searching—waiting strategy: A candidate for an evolutionary model of depression? // Behavioral and neural biology. — 1984. — V. 41, № 2. — P. 180-189.
242. Dixon A. Ethological strategies for defence in animals and humans: their role in some psychiatric disorders // British Journal of Medical Psychology. — 1998. — V. 71, № 4. — P. 417-445.
243. Gilbert P., Allan S. The role of defeat and entrapment (arrested flight) in depression: an exploration of an evolutionary view // Psychological medicine. — 1998. — V. 28, № 3. — P. 585-598.
244. Gilbert P., Gilbert J. Entrapment and arrested fight and flight in depression: An exploration using focus groups // Psychology and Psychotherapy: Theory, Research and Practice. — 2003. — V. 76, № 2. — P. 173-188.
245. Weingartner H. Model of cognitive impairment: Cognitive changes in depression // Psychopharmacol Bull. — 1982. — V. 18. — P. 27-42.
246. Kawahara H., Yoshida M., Yokoo H., Nishi M., Tanaka M. Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdala and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis // Neuroscience letters. — 1993. — V. 162, № 1-2. — P. 81-84.
247. Dunn A. J. Stress-Related Activation of Cerebral Dopaminergic Systems a // Annals of the New York Academy of Sciences. — 1988. — V. 537, № 1. — P. 188-205.
248. Funada M., Hara C. Differential effects of psychological stress on activation of the 5-hydroxytryptamine-and dopamine-containing neurons in the brain of freely moving rats // Brain research. — 2001. — V. 901, № 1-2. — P. 247-251.
249. Emerson A. J., Kappenman D. P., Ronan P. J., Renner K. J., Summers C. H. Stress induces rapid changes in serotonergic activity: restraint and exertion // Behavioural brain research. — 2000. — V. 111, № 1-2. — P. 83-92.
250. Gesto M., López-Patiño M. A., Hernández J., Soengas J. L., Míguez J. M. The response of brain serotonergic and dopaminergic systems to an acute stressor in rainbow trout: a time course study // Journal of Experimental Biology. — 2013. — V. 216, № 23. — P. 4435-4442.
251. Gesto M., López-Patiño M., Hernández J., Soengas J., Míguez J. Gradation of the stress response in rainbow trout exposed to stressors of different severity: the role of brain serotonergic and dopaminergic systems // Journal of neuroendocrinology. — 2015. — V. 27, № 2. — P. 131-141.
252. Connor T. J., Kelly J. P., Leonard B. E. Forced swim test-induced neurochemical, endocrine, and immune changes in the rat // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 1997. — V. 58, № 4. — P. 961-967.
253. Renard C. E., Dailly E., David D. J., Hascoet M., Bourin M. Monoamine metabolism changes following the mouse forced swimming test but not the tail suspension test // Fundamental & clinical pharmacology. — 2003. — V. 17, № 4. — P. 449-455.
254. Fuzzen M. L., Van Der Kraak G., Bernier N. J. Stirring up new ideas about the regulation of the hypothalamic-pituitary-interrenal axis in zebrafish (Danio rerio) // Zebrafish. — 2010. — V. 7, № 4. — P. 349-358.
255. Pavlidis M., Theodoridi A., Tsalafouta A. Neuroendocrine regulation of the stress response in adult zebrafish, Danio rerio // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2015. — V. 60. — P. 121-131.
256. Mocelin R., Herrmann A. P., Marcon M., Rambo C. L., Rohden A., Bevilaqua F., de Abreu M. S., Zanatta L., Elisabetsky E., Barcellos L. J. N-acetylcysteine prevents stress-induced anxiety behavior in zebrafish // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2015. — V. 139. — P. 121-126.
257. Drossopoulou G., Antoniou K., Kitraki E., Papathanasiou G., Papalexi E., Dalla C., Papadopoulou-Daifoti Z. Sex differences in behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects induced by the forced swim test in rats // Neuroscience. — 2004. — V. 126, № 4. — P. 849-857.
258. de Abreu M. S., Koakoski G., Ferreira D., Oliveira T. A., da Rosa J. G. S., Gusso D., Giacomini A. C. V., Piato A. L., Barcellos L. J. G. Diazepam and Fluoxetine Decrease the Stress Response in Zebrafish // Plos One. — 2014. — Jul. — V. 9, № 7. — P. 5.

259. Aponte A., Petrunich-Rutherford M. L. Acute net stress of young adult zebrafish (Danio rerio) is not sufficient to increase anxiety-like behavior and whole-body cortisol // PeerJ. — 2019. — V. 7. — P. e7469-e7469.
260. Abreu M. S., Giacomini A. C. V., Koakoski G., Oliveira T. A., Gusso D., Baldisserotto B., Barcellos L. J. G. Effects of waterborne fluoxetine on stress response and osmoregulation in zebrafish // Environmental Toxicology and Pharmacology. — 2015. — Nov. — V. 40, № 3. — P. 704-707.
261. Nema S., Hasan W., Bhargava A., Bhargava Y. A novel method for automated tracking and quantification of adult zebrafish behaviour during anxiety // Journal of neuroscience methods. — 2016. — V. 271. — P. 65-75.
262. Franco-Restrepo J. E., Forero D. A., Vargas R. A. A review of freely available, open-source software for the automated analysis of the behavior of adult zebrafish // Zebrafish. — 2019. — V. 16, № 3. — P. 223-232.
263. Demin K. A., Lakstygal A. M., Volgin A. D., de Abreu M. S., Genario R., Alpyshov E. T., Serikuly N., Wang D., Wang J., Yan D. Cross-species analyses of intra-species behavioral differences in mammals and fish // Neuroscience. — 2020.
264. Wang J., Wang D., Hu G., Yang L., Yan D., Wang M., Serikuly N., Alpyshov E., Amstislavskaya T. G., Demin K. A. A new method for vibration-based neurophenotyping of zebrafish // Journal of Neuroscience Methods. — 2019. — P. 108563.
265. Richter S. H., Garner J. P., Würbel H. Environmental standardization: cure or cause of poor reproducibility in animal experiments? // Nature methods. — 2009. — V. 6, № 4. — P. 257.
266. Voelkl B., Vogt L., Sena E. S., Würbel H. Reproducibility of preclinical animal research improves with heterogeneity of study samples // PLoS biology. — 2018. — V. 16, № 2.
267. The principles of humane experimental technique. / Russell W. M. S., Burch R. L.: Methuen, 1959.
268. Kim J. Y., Yang S. H., Kwon J., Lee H. W., Kim H. Mice subjected to uncontrollable electric shocks show depression-like behaviors irrespective of their state of helplessness // Behavioural brain research. — 2017. — V. 322. — P. 138-144.
269. Cooper G. L. The safety of fluoxetine-an update // The British Journal of Psychiatry. — 1988. — V. 153, № S3. — P. 77-86.
270. Bergstrom R., Lemberger L., Farid N., Wolen R. Clinical pharmacology and pharmacokinetics of fluoxetine: a review // The British Journal of Psychiatry. — 1988. — V. 153, № S3. — P. 47-50.
271. Chouinard G. A double-blind controlled clinical trial of fluoxetine and amitriptyline in the treatment of outpatients with major depressive disorder // The Journal of clinical psychiatry. — 1985. — V. 46, № 3 Pt 2. — P. 32-37.
272. Liu X.-L., Luo L., Mu R.-H., Liu B.-B., Geng D., Liu Q., Yi L.-T. Fluoxetine regulates mTOR signalling in a region-dependent manner in depression-like mice // Scientific reports. — 2015. — V. 5, № 1. — P. 1-11.
273. Nollet M., Gaillard P., Minier F., Tanti A., Belzung C., Leman S. Activation of orexin neurons in dorsomedial/perifornical hypothalamus and antidepressant reversal in a rodent model of depression // Neuropharmacology. — 2011. — V. 61, № 1-2. — P. 336-346.
274. Christiansen S., Olesen M. V., Wörtwein G., Woldbye D. P. D. Fluoxetine reverts chronic restraint stress-induced depression-like behaviour and increases neuropeptide Y and galanin expression in mice // Behavioural brain research. — 2011. — V. 216, № 2. — P. 585-591.
275. Hodes G. E., Hill-Smith T. E., Lucki I. Fluoxetine treatment induces dose dependent alterations in depression associated behavior and neural plasticity in female mice // Neuroscience letters. — 2010. — V. 484, № 1. — P. 12-16.
276. Abreu M. S., Giacomini A. C., Kalueff A. V., Barcellos L. J. The smell of “anxiety”: behavioral modulation by experimental anosmia in zebrafish // Physiology & behavior. — 2016. — V. 157. — P. 67-71.

277. Wong R. Y., Oxendine S. E., Godwin J. Behavioral and neurogenomic transcriptome changes in wild-derived zebrafish with fluoxetine treatment // BMC genomics. — 2013. — V. 14, № 1. — P. 348.
278. Song C., Yang L., Wang J., Chen P., Li S., Liu Y., Nguyen M., Kaluyeva A., Kyzar E. J., Gaikwad S. Building neurophenomics in zebrafish: effects of prior testing stress and test batteries // Behavioural brain research. — 2016. — V. 311. — P. 24-30.
279. Blaser R. E., Rosemberg D. B. Measures of anxiety in zebrafish (Danio rerio): dissociation of black/white preference and novel tank test // PloS one. — 2012. — V. 7, № 5.
280. 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 // Zebrafish protocols for neurobehavioral researchSpringer, 2012. — P. 231-246.
281. Miller N., Gerlai R. From schooling to shoaling: patterns of collective motion in zebrafish (Danio rerio) // PLoS One. — 2012. — V. 7, № 11. — P. e48865.
282. 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. — 2013. — Mar. — V. 10, № 1. — P. 70-86.
283. de Medeiros G. F., Minni A. M., Helbling J.-C., Moisan M.-P. Chronic stress does not further exacerbate the abnormal psychoneuroendocrine phenotype of Cbg-deficient male mice // Psychoneuroendocrinology. — 2016. — V. 70. — P. 33-37.
284. Che Y., Zhou Z., Shu Y., Zhai C., Zhu Y., Gong S., Cui Y., Wang J.-F. Chronic unpredictable stress impairs endogenous antioxidant defense in rat brain // Neuroscience letters. — 2015. — V. 584. — P. 208-213.
285. Bielajew C., Konkle A., Kentner A., Baker S., Stewart A., Hutchins A., Santa-Maria Barbagallo L., Fouriezos G. Strain and gender specific effects in the forced swim test: effects of previous stress exposure // Stress. — 2003. — V. 6, № 4. — P. 269-280.
286. Mu Y., Li X.-q., Zhang B., Du J.-l. Visual input modulates audiomotor function via hypothalamic dopaminergic neurons through a cooperative mechanism // Neuron. — 2012. — V. 75, № 4. — P. 688-699.
287. Zabegalov K. N., Kolesnikova T. O., Khatsko S. L., Volgin A. D., Yakovlev O. A., Amstislavskaya T. G., Friend A. J., Bao W., Alekseeva P. A., Lakstygal A. M. Understanding zebrafish aggressive behavior // Behavioural processes. — 2019. — V. 158. — P. 200-210.
288. Pfaffl M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR // Nucleic acids research. — 2001. — V. 29, № 9. — P. e45-e45.
289. Pfaffl M. W. Relative quantification // Real-time PCR. — 2006. — V. 63. — P. 63-82.
290. Nelder J. A., Wedderburn R. W. Generalized linear models // Journal of the Royal Statistical Society: Series A (General). — 1972. — V. 135, № 3. — P. 370-384.
291. Casals M., Girabent-Farres M., Carrasco J. L. Methodological quality and reporting of generalized linear mixed models in clinical medicine (2000–2012): a systematic review // PloS one. — 2014. — V. 9, № 11.
292. Generalized linear models. / McCullagh P.: Routledge, 2018.
293. An introduction to generalized linear models. / Dobson A. J., Barnett A. G.: CRC press, 2018.
294. Goodman A. C., Wong R. Y. Differential effects of ethanol on behavior and GABA A receptor expression in adult zebrafish (Danio rerio) with alternative stress coping styles // Scientific Reports. — 2020. — V. 10, № 1. — P. 1-11.
295. Liu C., Cripe T. P., Kim M.-O. Statistical issues in longitudinal data analysis for treatment efficacy studies in the biomedical sciences // Molecular Therapy. — 2010. — V. 18, № 9. — P. 1724-1730.

296. Analysis of longitudinal data. / Diggle P., Diggle P. J., Heagerty P., Liang K.-Y., Heagerty P. J., Zeger S.: Oxford University Press, 2002.
297. Burnham K. P., Anderson D. R. Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection // Sociological methods & research. — 2004. — V. 33, № 2. — P. 261-304.
298. Akaike H. A new look at the statistical model identification // IEEE transactions on automatic control. — 1974. — V. 19, № 6. — P. 716-723.
299. Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting. / Motulsky H., Christopoulos A.: Oxford University Press, 2004.
300. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2017.
301. ggplot2: elegant graphics for data analysis. / Wickham H.: Springer, 2016.
302. Dobin A., Davis C. A., Schlesinger F., Drenkow J., Zaleski C., Jha S., Batut P., Chaisson M., Gingeras T. R. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner // Bioinformatics. — 2013. — V. 29, № 1. — P. 15-21.
303. Liao Y., Smyth G. K., Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features // Bioinformatics. — 2014. — V. 30, № 7. — P. 923-930.
304. Huber W., Carey V. J., Gentleman R., Anders S., Carlson M., Carvalho B. S., Bravo H. C., Davis S., Gatto L., Girke T., Gottardo R., Hahne F., Hansen K. D., Irizarry R. A., Lawrence M., Love M. I., MacDonald J., Obenchain V., Oles A. K., Pages H., Reyes A., Shannon P., Smyth G. K., Tenenbaum D., Waldron L., Morgan M. Orchestrating high-throughput genomic analysis with Bioconductor // Nat Meth. — 2015. — 02//print. — V. 12, № 2. — P. 115-121.
305. Love M. I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 // Genome Biology. — 2014. — December 05. — V. 15, № 12. — P. 550.
306. Schurch N. J., Schofield P., Gierliński M., Cole C., Sherstnev A., Singh V., Wrobel N., Gharbi K., Simpson G. G., Owen-Hughes T., Blaxter M., Barton G. J. How many biological replicates are needed in an RNA-seq experiment and which differential expression tool should you use? // RNA. — 2016. — 08/13/received/02/17/accepted. — V. 22, № 6. — P. 839-851.
307. Subramanian A., Tamayo P., Mootha V. K., Mukherjee S., Ebert B. L., Gillette M. A., Paulovich A., Pomeroy S. L., Golub T. R., Lander E. S. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2005. — V. 102, № 43. — P. 15545-15550.
308. Kim S.-Y., Volsky D. J. PAGE: parametric analysis of gene set enrichment // BMC bioinformatics. — 2005. — V. 6, № 1. — P. 144.
309. Nam D., Kim S.-Y. Gene-set approach for expression pattern analysis // Briefings in bioinformatics. — 2008. — V. 9, № 3. — P. 189-197.
310. Tian L., Greenberg S. A., Kong S. W., Altschuler J., Kohane I. S., Park P. J. Discovering statistically significant pathways in expression profiling studies // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2005. — V. 102, № 38. — P. 13544-13549.
311. Luo W., Friedman M. S., Shedden K., Hankenson K. D., Woolf P. J. GAGE: generally applicable gene set enrichment for pathway analysis // BMC Bioinformatics. — 2009. — May 27. — V. 10. — P. 161.
312. Kanehisa M., Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes // Nucleic acids research. — 2000. — V. 28, № 1. — P. 27-30.
313. Ashburner M., Ball C. A., Blake J. A., Botstein D., Butler H., Cherry J. M., Davis A. P., Dolinski K., Dwight S. S., Eppig J. T. Gene ontology: tool for the unification of biology // Nature genetics. — 2000. — V. 25, № 1. — P. 25-29.
314. Luo W. Generally Applicable Gene-set/Pathway Analysis //. — 2017.
315. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N. S., Wang J. T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks // Genome Res. — 2003. — Nov. — V. 13, № 11. — P. 2498-504.

316. Smoot M. E., Ono K., Ruscheinski J., Wang P. L., Ideker T. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization // Bioinformatics. — 2011. — Feb 01. — V. 27, № 3. — P. 431-2.
317. Szklarczyk D., Gable A. L., Lyon D., Junge A., Wyder S., Huerta-Cepas J., Simonovic M., Doncheva N. T., Morris J. H., Bork P. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets // Nucleic acids research. — 2019. — V. 47, № D1. — P. D607-D613.
318. Chin C. H., Chen S. H., Wu H. H., Ho C. W., Ko M. T., Lin C. Y. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome // BMC Syst Biol. — 2014. — V. 8 Suppl 4. — P. S11.
319. Freeman L. C. A set of measures of centrality based on betweenness // Sociometry. — 1977. — P. 35-41.
320. Yu H., Kim P. M., Sprecher E., Trifonov V., Gerstein M. The importance of bottlenecks in protein networks: correlation with gene essentiality and expression dynamics // PLoS computational biology. — 2007. — V. 3, № 4.
321. Lin C. Y., Chin C. H., Wu H. H., Chen S. H., Ho C. W., Ko M. T. Hubba: hub objects analyzer--a framework of interactome hubs identification for network biology // Nucleic Acids Res. — 2008. — Jul 01. — V. 36, № Web Server issue. — P. W438-43.
322. Montojo J., Zuberi K., Rodriguez H., Kazi F., Wright G., Donaldson S. L., Morris Q., Bader G. D. GeneMANIA Cytoscape plugin: fast gene function predictions on the desktop // Bioinformatics. — 2010. — Nov 15. — V. 26, № 22. — P. 2927-8.
323. Montojo J., Zuberi K., Rodriguez H., Bader G. D., Morris Q. GeneMANIA: Fast gene network construction and function prediction for Cytoscape // F1000Res. — 2014. — V. 3. — P. 153.
324. Warde-Farley D., Donaldson S. L., Comes O., Zuberi K., Badrawi R., Chao P., Franz M., Grouios C., Kazi F., Lopes C. T. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function // Nucleic acids research. — 2010. — V. 38, № suppl_2. — P. W214-W220.
325. Demin K. A., Lakstygal A. M., Alekseeva P. A., Sysoev M., de Abreu M. S., Alpyshov E. T., Serikuly N., Wang D., Wang M., Tang Z. The role of intraspecies variation in fish neurobehavioral and neuropharmacological phenotypes in aquatic models // Aquatic Toxicology. — 2019. — V. 210. — P. 44-55.
326. Branchi I. The double edged sword of neural plasticity: increasing serotonin levels leads to both greater vulnerability to depression and improved capacity to recover // Psychoneuroendocrinology. — 2011. — V. 36, № 3. — P. 339-351.
327. Cowen P. J., Browning M. What has serotonin to do with depression? // World Psychiatry. — 2015. — V. 14, № 2. — P. 158.
328. Kraus C., Castrén E., Kasper S., Lanzenberger R. Serotonin and neuroplasticity–links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2017. — V. 77. — P. 317-326.
329. Nautiyal K. M., Hen R. Serotonin receptors in depression: from A to B // F1000Research. — 2017. — V. 6.
330. Dellu-Hagedorn F., Fitoussi A., De Deurwaerdère P. Correlative analysis of dopaminergic and serotonergic metabolism across the brain to study monoaminergic function and interaction // Journal of Neuroscience Methods. — 2017. — V. 280. — P. 54-63.
331. Whitestone S., De Deurwaerdère P., Baassiri L., Manem J., Anouar Y., Di Giovanni G., Bharatiya R., Chagraoui A. Effect of the 5-HT2C Receptor Agonist WAY-163909 on Serotonin and Dopamine Metabolism across the Rat Brain: A Quantitative and Qualitative Neurochemical Study // International journal of molecular sciences. — 2019. — V. 20, № 12. — P. 2925.

332. Fulcher N., Tran S., Shams S., Chatterjee D., Gerlai R. Neurochemical and behavioral responses to unpredictable chronic mild stress following developmental isolation: the zebrafish as a model for major depression // Zebrafish. — 2017. — V. 14, № 1. — P. 23-34.
333. Huang V., Butler A. A., Lubin F. D. Telencephalon transcriptome analysis of chronically stressed adult zebrafish // Scientific reports. — 2019. — V. 9, № 1. — P. 1-9.
334. Leboyer M., Soreca I., Scott J., Frye M., Henry C., Tamouza R., Kupfer D. J. Can bipolar disorder be viewed as a multi-system inflammatory disease? // Journal of affective disorders. — 2012. — V. 141, № 1. — P. 1-10.
335. Leu S.-J., Shiah I.-S., Yatham L. N., Cheu Y.-M., Lam R. W. Immune–inflammatory markers in patients with seasonal affective disorder: effects of light therapy // Journal of affective disorders. — 2001. — V. 63, № 1-3. — P. 27-34.
336. Rothermundt M., Arolt V., Peters M., Gutbrodt H., Fenker J., Kersting A., Kirchner H. Inflammatory markers in major depression and melancholia // Journal of affective disorders. — 2001. — V. 63, № 1-3. — P. 93-102.
337. Tsai S.-Y., Chung K.-H., Wu J.-Y., Kuo C.-J., Lee H.-C., Huang S.-H. Inflammatory markers and their relationships with leptin and insulin from acute mania to full remission in bipolar disorder // Journal of affective disorders. — 2012. — V. 136, № 1-2. — P. 110-116.
338. Miller A. H., Maletic V., Raison C. L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression // Biological psychiatry. — 2009. — V. 65, № 9. — P. 732-741.
339. Naninck E., Lucassen P., Bakker J. Sex differences in adolescent depression: do sex hormones determine vulnerability? // Journal of neuroendocrinology. — 2011. — V. 23, № 5. — P. 383-392.
340. Almeida O. P., Waterreus A., Spry N., Flicker L., Martins R. N. One year follow-up study of the association between chemical castration, sex hormones, beta-amyloid, memory and depression in men // Psychoneuroendocrinology. — 2004. — V. 29, № 8. — P. 1071-1081.
341. Erdinçler D., Bugay G., Ertan T., Eker E. Depression and sex hormones in elderly women // Archives of gerontology and geriatrics. — 2004. — V. 39, № 3. — P. 239-244.
342. Walf A. A., Frye C. A. A review and update of mechanisms of estrogen in the hippocampus and amygdala for anxiety and depression behavior // Neuropsychopharmacology. — 2006. — V. 31, № 6. — P. 1097-1111.
343. Hansen P.-D., Dizer H., Hock B., Marx A., Sherry J., McMaster M., Blaise C. Vitellogenin–a biomarker for endocrine disruptors // TrAC Trends in Analytical Chemistry. — 1998. — V. 17, № 7. — P. 448-451.
344. Lim E., Ding J., Lam T. Estradiol-induced vitellogenin gene expression in a teleost fish, Oreochromis aureus // General and comparative endocrinology. — 1991. — V. 82, № 2. — P. 206-214.
345. Knapp B., Wolfrum U. Adhesion GPCR-related protein networks // Adhesion G Protein-coupled ReceptorsSpringer, 2016. — P. 147-178.
346. Folts C. J., Giera S., Li T., Piao X. Adhesion G protein-coupled receptors as drug targets for neurological diseases // Trends in pharmacological sciences. — 2019.
347. Okajima D., Kudo G., Yokota H. Antidepressant-like behavior in brain-specific angiogenesis inhibitor 2-deficient mice // The Journal of Physiological Sciences. — 2011. — V. 61, № 1. — P. 47-54.
348. Gurevich V. V., Gurevich E. V. The structural basis of arrestin-mediated regulation of G-protein-coupled receptors // Pharmacology & therapeutics. — 2006. — V. 110, № 3. — P. 465-502.
349. Lefkowitz R. J., Shenoy S. K. Transduction of receptor signals by ß-arrestins // Science. — 2005. — V. 308, № 5721. — P. 512-517.
350. Gurevich E. V., Gurevich V. V. Arrestins: ubiquitous regulators of cellular signaling pathways // Genome biology. — 2006. — V. 7, № 9. — P. 236.

351. Violin J. D., Lefkowitz R. J. β-Arrestin-biased ligands at seven-transmembrane receptors // Trends in pharmacological sciences. — 2007. — V. 28, № 8. — P. 416-422.
352. Schreiber G., Golan M., Avissar S. Beta-arrestin signaling complex as a target for antidepressants and as a depression marker // Drug News Perspect. — 2009. — V. 22, № 8. — P. 467-480.
353. Avissar S., Matuzany-Ruban A., Tzukert K., Schreiber G. β-arrestin-1 levels: reduced in leukocytes of patients with depression and elevated by antidepressants in rat brain // American Journal of Psychiatry. — 2004. — V. 161, № 11. — P. 2066-2072.
354. Matuzany-Ruban A., Avissar S., Schreiber G. Dynamics of beta-arrestin1 protein and mRNA levels elevation by antidepressants in mononuclear leukocytes of patients with depression // Journal of affective disorders. — 2005. — V. 88, № 3. — P. 307-312.
355. Schmid C. L., Raehal K. M., Bohn L. M. Agonist-directed signaling of the serotonin 2A receptor depends on β-arrestin-2 interactions in vivo // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2008. — V. 105, № 3. — P. 1079-1084.
356. Kommaddi R. P., Shenoy S. K. Arrestins and protein ubiquitination // Progress in molecular biology and translational scienceElsevier, 2013. — P. 175-204.
357. Golan M., Schreiber G., Avissar S. Antidepressants increase β-arrestin2 ubiquitinylation and degradation by the proteasomal pathway in C6 rat glioma cells // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2010. — V. 332, № 3. — P. 970-976.
358. The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals. / Hubrecht R. C., Kirkwood J.: John Wiley & Sons, 2010.
359. Beiko J., Lander R., Hampson E., Boon F., Cain D. P. Contribution of sex differences in the acute stress response to sex differences in water maze performance in the rat // Behavioural brain research. — 2004. — V. 151, № 1-2. — P. 239-253.
360. Luine V. Sex differences in chronic stress effects on memory in rats // Stress. — 2002. — V. 5, № 3. — P. 205-216.
361. Bowman R. E., Beck K. D., Luine V. N. Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity // Hormones and behavior. — 2003. — V. 43, № 1. — P. 48-59.
362. Ter Horst G. J., Wichmann R., Gerrits M., Westenbroek C., Lin Y. Sex differences in stress responses: focus on ovarian hormones // Physiology & behavior. — 2009. — V. 97, № 2. — P. 239-249.
363. Henningsen K., Andreasen J. T., Bouzinova E. V., Jayatissa M. N., Jensen M. S., Redrobe J. P., Wiborg O. Cognitive deficits in the rat chronic mild stress model for depression: relation to anhedonic-like responses // Behavioural brain research. — 2009. — V. 198, № 1. — P. 136-141.
364. Sanchez C., Gruca P., Papp M. R-citalopram counteracts the antidepressant-like effect of escitalopram in a rat chronic mild stress model // Behavioural pharmacology. — 2003. — V. 14, № 5. — P. 465-470.
365. Rygula R., Abumaria N., Domenici E., Hiemke C., Fuchs E. Effects of fluoxetine on behavioral deficits evoked by chronic social stress in rats // Behavioural brain research. — 2006. — V. 174, № 1. — P. 188-192.
366. Pellow S., File S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat // Pharmacology biochemistry and behavior. — 1986. — V. 24, № 3. — P. 525-529.
367. Labonté B., Engmann O., Purushothaman I., Menard C., Wang J., Tan C., Scarpa J. R., Moy G., Loh Y.-H. E., Cahill M. Sex-specific transcriptional signatures in human depression // Nature medicine. — 2017. — V. 23, № 9. — P. 1102-1111.
368. Spitzer R. L., Williams J. B., Gibbon M., First M. B. The structured clinical interview for DSM-III-R (SCID): I: history, rationale, and description // Archives of general psychiatry. — 1992. — V. 49, № 8. — P. 624-629.

369. Papp E. A., Leergaard T. B., Calabrese E., Johnson G. A., Bjaalie J. G. Waxholm Space atlas of the Sprague Dawley rat brain // Neuroimage. — 2014. — V. 97. — P. 374-386.
370. Neuroanatomy: an atlas of structures, sections, and systems. / Haines D. E.: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. — V. 2004.
371. Nolte J. The human brain: an introduction to its functional neuroanatomy // Mosby: St Louis. — 2002.
372. Afgan E., Baker D., Batut B., Van Den Beek M., Bouvier D., Čech M., Chilton J., Clements D., Coraor N., Grüning B. A. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update // Nucleic acids research. — 2018. — V. 46, № W1. — P. W537-W544.
373. Demin K. A., Kalueff A. V. Understanding translational and evolutionary conservative molecular biomarkers of affective disorders in the zebrafish, rat and human // 28th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference “Stress and Behavior”. — Saint Petersburg, Russia: The International Stress and Behavior Society, 2021.
374. Mancarci O., French L. Homologene: quick access to homologene and gene annotation updates // R package version. — 2019. — V. 1. — P. 68.
375. Gearing L. J., Cumming H. E., Chapman R., Finkel A. M., Woodhouse I. B., Luu K., Gould J. A., Forster S. C., Hertzog P. J. CiiiDER: A tool for predicting and analysing transcription factor binding sites // PloS one. — 2019. — V. 14, № 9. — P. e0215495.
376. Fisher R. A. Statistical methods for research workers // Statistical methods for research workers. — 1946. № 10th. ed.
377. Marot G., Jaffrézic F., Rau A. metaRNASeq: Differential meta-analysis of RNA-seq data // dim (param). — 2020. — V. 1, № 26408. — P. 3.
378. Panahi B., Frahadian M., Dums J. T., Hejazi M. A. Integration of cross species RNA-Seq meta-analysis and machine-learning models identifies the most important salt stress–responsive pathways in microalga Dunaliella // Frontiers in genetics. — 2019. — V. 10. — P. 752.
379. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N. S., Wang J. T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks // Genome research. — 2003. — V. 13, № 11. — P. 2498-2504.
380. Zhou G., Xia J. OmicsNet: a web-based tool for creation and visual analysis of biological networks in 3D space // Nucleic acids research. — 2018. — V. 46, № W1. — P. W514-W522.
381. Zheng C.-H., Yuan L., Sha W., Sun Z.-L. Gene differential coexpression analysis based on biweight correlation and maximum clique // BMC bioinformatics. — V. 15 —Springer, 2014. — P. 1-7.
382. Jiao Q.-J., Shen H.-B. Maximum-clique algorithm: an effective method to mine large-scale co-expressed genes in arabidopsis anther // Proceedings of the 30th Chinese Control Conference — IEEE, 2011. — P. 5650-5655.
383. Amgalan B., Lee H. WMAXC: a weighted maximum clique method for identifying condition-specific sub-network // PloS one. — 2014. — V. 9, № 8. — P. e104993.
384. Pradhan M. P., Nagulapalli K., Palakal M. J. Cliques for the identification of gene signatures for colorectal cancer across population // BMC systems biology. — 2012. — V. 6, № 3. — P. 1-17.
385. Luce R. D., Perry A. D. A method of matrix analysis of group structure // Psychometrika. — 1949. — V. 14, № 2. — P. 95-116.
386. Akkoyunlu E. A. The enumeration of maximal cliques of large graphs // SIAM Journal on Computing. — 1973. — V. 2, № 1. — P. 1-6.
387. Mistry J., Chuguransky S., Williams L., Qureshi M., Salazar G. A., Sonnhammer E. L., Tosatto S. C., Paladin L., Raj S., Richardson L. J. Pfam: The protein families database in 2021 // Nucleic Acids Research. — 2021. — V. 49, № D1. — P. D412-D419.
388. Boratyn G. M., Schäffer A. A., Agarwala R., Altschul S. F., Lipman D. J., Madden T. L. Domain enhanced lookup time accelerated BLAST // Biology direct. — 2012. — V. 7, № 1. — P. 1-14.

389. Alvarez-Bolado G. Development of neuroendocrine neurons in the mammalian hypothalamus // Cell and tissue research. — 2019. — V. 375, № 1. — P. 23-39.
390. Clare A. J., Wicky H. E., Empson R. M., Hughes S. M. RNA-sequencing analysis reveals a regulatory role for transcription factor Fezf2 in the mature motor cortex // Frontiers in molecular neuroscience. — 2017. — V. 10. — P. 283.
391. Shimizu T., Nakazawa M., Kani S., Bae Y.-K., Shimizu T., Kageyama R., Hibi M. Zinc finger genes Fezf1 and Fezf2 control neuronal differentiation by repressing Hes5 expression in the forebrain // Development. — 2010. — V. 137, № 11. — P. 1875-1885.
392. Yang N., Dong Z., Guo S. Fezf2 regulates multilineage neuronal differentiation through activating basic helix-loop-helix and homeodomain genes in the zebrafish ventral forebrain // Journal of Neuroscience. — 2012. — V. 32, № 32. — P. 10940-10948.
393. Dennis D. J., Wilkinson G., Li S., Dixit R., Adnani L., Balakrishnan A., Han S., Kovach C., Gruenig N., Kurrasch D. M. Neurog2 and Ascl1 together regulate a postmitotic derepression circuit to govern laminar fate specification in the murine neocortex // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2017. — V. 114, № 25. — P. E4934-E4943.
394. Kiehl T.-R., Fischer S. E., Ezzat S., Asa S. L. Mice lacking the transcription factor Ikaros display behavioral alterations of an anti-depressive phenotype // Experimental neurology. — 2008. — V. 211, № 1. — P. 107-114.
395. Hernandez D., Egan S. E., Yulug I. G., Fisher E. M. Mapping the gene that encodes phosphatidylinositol-specific phospholipase C-gamma 2 in the human and the mouse // Genomics. — 1994. — Sep 15. — V. 23, № 2. — P. 504-7.
396. Koss H., Bunney T. D., Behjati S., Katan M. Dysfunction of phospholipase Cgamma in immune disorders and cancer // Trends Biochem Sci. — 2014. — Dec. — V. 39, № 12. — P. 603-11.
397. Yang Y. R., Kang D. S., Lee C., Seok H., Follo M. Y., Cocco L., Suh P. G. Primary phospholipase C and brain disorders // Adv Biol Regul. — 2016. — May. — V. 61. — P. 80-5.
398. Jang H. J., Yang Y. R., Kim J. K., Choi J. H., Seo Y. K., Lee Y. H., Lee J. E., Ryu S. H., Suh P. G. Phospholipase C-gamma1 involved in brain disorders // Adv Biol Regul. — 2013. — Jan. — V. 53, № 1. — P. 51-62.
399. Giralt A., Rodrigo T., Martin E. D., Gonzalez J. R., Mila M., Cena V., Dierssen M., Canals J. M., Alberch J. Brain-derived neurotrophic factor modulates the severity of cognitive alterations induced by mutant huntingtin: involvement of phospholipaseCgamma activity and glutamate receptor expression // Neuroscience. — 2009. — Feb 18. — V. 158, № 4. — P. 1234-50.
400. Rantamaki T., Hendolin P., Kankaanpaa A., Mijatovic J., Piepponen P., Domenici E., Chao M. V., Mannisto P. T., Castren E. Pharmacologically diverse antidepressants rapidly activate brain-derived neurotrophic factor receptor TrkB and induce phospholipase-Cgamma signaling pathways in mouse brain // Neuropsychopharmacology. — 2007. — Oct. — V. 32, № 10. — P. 2152-62.
401. Turecki G., Grof P., Cavazzoni P., Duffy A., Grof E., Ahrens B., Berghofer A., Muller-Oerlinghausen B., Dvorakova M., Libigerova E., Vojtechovsky M., Zvolsky P., Joober R., Nilsson A., Prochazka H., Licht R. W., Rasmussen N. A., Schou M., Vestergaard P., Holzinger A., Schumann C., Thau K., Rouleau G. A., Alda M. Evidence for a role of phospholipase C-gamma1 in the pathogenesis of bipolar disorder // Mol Psychiatry. — 1998. — Nov. — V. 3, № 6. — P. 534-8.
402. Mao D., Epple H., Uthgenannt B., Novack D. V., Faccio R. PLCgamma2 regulates osteoclastogenesis via its interaction with ITAM proteins and GAB2 // J Clin Invest. — 2006. — Nov. — V. 116, № 11. — P. 2869-79.
403. Ombrello M. J., Remmers E. F., Sun G., Freeman A. F., Datta S., Torabi-Parizi P., Subramanian N., Bunney T. D., Baxendale R. W., Martins M. S., Romberg N., Komarow H., Aksentijevich I., Kim H. S., Ho J., Cruse G., Jung M. Y., Gilfillan A. M., Metcalfe D. D., Nelson C., O'Brien M., Wisch L., Stone K., Douek D. C., Gandhi C., Wanderer A. A., Lee H., Nelson S. F., Shianna K. V., Cirulli E. T., Goldstein D. B., Long E. O., Moir S., Meffre E., Holland S. M., Kastner D. L., Katan M.,

Hoffman H. M., Milner J. D. Cold urticaria, immunodeficiency, and autoimmunity related to PLCG2 deletions // N Engl J Med. — 2012. — Jan 26. — V. 366, № 4. — P. 330-8.
404. Zhou Q., Lee G. S., Brady J., Datta S., Katan M., Sheikh A., Martins M. S., Bunney T. D., Santich B. H., Moir S., Kuhns D. B., Long Priel D. A., Ombrello A., Stone D., Ombrello M. J., Khan J., Milner J. D., Kastner D. L., Aksentijevich I. A hypermorphic missense mutation in PLCG2, encoding phospholipase Cgamma2, causes a dominantly inherited autoinflammatory disease with immunodeficiency // Am J Hum Genet. — 2012. — Oct 5. — V. 91, № 4. — P. 713-20.
405. Magno L., Lessard C. B., Martins M., Lang V., Cruz P., Asi Y., Katan M., Bilsland J., Lashley T., Chakrabarty P., Golde T. E., Whiting P. J. Alzheimer's disease phospholipase C-gamma-2 (PLCG2) protective variant is a functional hypermorph // Alzheimers Res Ther. — 2019. — Feb 2. — V. 11, № 1. — P. 16.
406. Lazar M. A. Thyroid hormone receptors: multiple forms, multiple possibilities // Endocrine reviews. — 1993. — V. 14, № 2. — P. 184-193.
407. Yen P. M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action // Physiological reviews. — 2001. — V. 81, № 3. — P. 1097-1142.
408. Brent G. A. Mechanisms of thyroid hormone action // The Journal of clinical investigation. — 2012. — V. 122, № 9. — P. 3035-3043.
409. Mellström B., Naranjo J. R., Santos A., Gonzalez A. M., Bernal J. Independent expression of the α and β c-erb A genes in developing rat brain // Molecular endocrinology. — 1991. — V. 5, № 9. — P. 1339-1350.
410. Bernal J. Thyroid hormone receptors in brain development and function // Nature clinical practice Endocrinology & metabolism. — 2007. — V. 3, № 3. — P. 249-259.
411. Rahman M. H., Ali M. Y. The Relationships between thyroid hormones and the brain serotonin (5-HT) system and mood: Of synergy and significance in the adult brain-A review // Faridpur Medical College Journal. — 2014. — V. 9, № 2. — P. 98-101.
412. Kirkegaard C., Faber J. The role of thyroid hormones in depression // European Journal of Endocrinology. — 1998. — V. 138. — P. 1-9.
413. Bauer M., Heinz A., Whybrow P. Thyroid hormones, serotonin and mood: of synergy and significance in the adult brain // Molecular psychiatry. — 2002. — V. 7, № 2. — P. 140-156.
414. Whybrow P. C., Prange A. J. A hypothesis of thyroid-catecholamine-receptor interaction: its relevance to affective illness // Archives of General Psychiatry. — 1981. — V. 38, № 1. — P. 106-113.
415. Bathla M., Singh M., Relan P. Prevalence of anxiety and depressive symptoms among patients with hypothyroidism // Indian journal of endocrinology and metabolism. — 2016. — V. 20, № 4. — P. 468.
416. Ittermann T., Völzke H., Baumeister S. E., Appel K., Grabe H. J. Diagnosed thyroid disorders are associated with depression and anxiety // Social psychiatry and psychiatric epidemiology. — 2015. — V. 50, № 9. — P. 1417-1425.
417. Demet M. M., Özmen B., Deveci A., Boyvada S., Adıgüzel H., Aydemir Ö. Depression and anxiety in hyperthyroidism // Archives of medical research. — 2002. — V. 33, № 6. — P. 552-556.
418. Rodrigues N. R., Theodosiou A. M., Nesbit M. A., Campbell L., Tandle A. T., Saranath D., Davies K. E. Characterization of Ngef, a novel member of the Dbl family of genes expressed predominantly in the caudate nucleus // Genomics. — 2000. — V. 65, № 1. — P. 53-61.
419. Shamah S. M., Lin M. Z., Goldberg J. L., Estrach S., Sahin M., Hu L., Bazalakova M., Neve R. L., Corfas G., Debant A. EphA receptors regulate growth cone dynamics through the novel guanine nucleotide exchange factor ephexin // Cell. — 2001. — V. 105, № 2. — P. 233-244.
420. Van Eekelen M., Runtuwene V., Masselink W., den Hertog J. Pair-wise regulation of convergence and extension cell movements by four phosphatases via RhoA // Plos one. — 2012. — V. 7, № 4. — P. e35913.

421. Schmucker D., Zipursky S. L. Signaling downstream of Eph receptors and ephrin ligands // Cell. — 2001. — V. 105, № 6. — P. 701-704.
422. Sahin M., Greer P. L., Lin M. Z., Poucher H., Eberhart J., Schmidt S., Wright T. M., Shamah S. M., O'Connell S., Cowan C. W. Eph-dependent tyrosine phosphorylation of ephexin1 modulates growth cone collapse // Neuron. — 2005. — V. 46, № 2. — P. 191-204.
423. Norris J. M., Langefeld C. D., Talbert M. E., Wing M. R., Haritunians T., Fingerlin T. E., Hanley A. J., Ziegler J. T., Taylor K. D., Haffner S. M. Genome-wide association study and follow-up analysis of adiposity traits in Hispanic Americans: the IRAS Family Study // Obesity. — 2009. — V. 17, № 10. — P. 1932-1941.
424. Knöll B., Drescher U. Src family kinases are involved in EphA receptor-mediated retinal axon guidance // Journal of Neuroscience. — 2004. — V. 24, № 28. — P. 6248-6257.
425. Sanderson D. J., Good M. A., Seeburg P. H., Sprengel R., Rawlins J. N. P., Bannerman D. M. The role of the GluR-A (GluR1) AMPA receptor subunit in learning and memory // Progress in brain research. — 2008. — V. 169. — P. 159-178.
426. Frey M. C., Sprengel R., Nevian T. Activity pattern-dependent long-term potentiation in neocortex and hippocampus of GluA1 (GluR-A) subunit-deficient mice // Journal of Neuroscience. — 2009. — V. 29, № 17. — P. 5587-5596.
427. Kessels H. W., Malinow R. Synaptic AMPA receptor plasticity and behavior // Neuron. — 2009. — V. 61, № 3. — P. 340-350.
428. Keinanen K., Wisden W., Sommer B., Werner P., Herb A., Verdoorn T. A., Sakmann B., Seeburg P. H. A family of AMPA-selective glutamate receptors // Science. — 1990. — V. 249, № 4968. — P. 556-560.
429. Sjöstedt E., Zhong W., Fagerberg L., Karlsson M., Mitsios N., Adori C., Oksvold P., Edfors F., Limiszewska A., Hikmet F. An atlas of the protein-coding genes in the human, pig, and mouse brain // Science. — 2020. — V. 367, № 6482.
430. Sanderson D. J., Hindley E., Smeaton E., Denny N., Taylor A., Barkus C., Sprengel R., Seeburg P. H., Bannerman D. M. Deletion of the GluA1 AMPA receptor subunit impairs recency-dependent object recognition memory // Learning & memory. — 2011. — V. 18, № 3. — P. 181-190.
431. Wiedholz L. M., Owens W., Horton R., Feyder M., Karlsson R., Hefner K., Sprengel R., Celikel T., Daws L., Holmes A. Mice lacking the AMPA GluR1 receptor exhibit striatal hyperdopaminergia and 'schizophrenia-related'behaviors // Molecular psychiatry. — 2008. — V. 13, № 6. — P. 631-640.
432. Maksimovic M., Vekovischeva O. Y., Aitta-aho T., Korpi E. R. Chronic treatment with mood-stabilizers attenuates abnormal hyperlocomotion of GluA1-subunit deficient mice // PLoS One. — 2014. — V. 9, № 6. — P. e100188.
433. Bannerman D. M., Deacon R. M., Brady S., Bruce A., Sprengel R., Seeburg P. H., Rawlins J. N. P. A comparison of GluR-A-deficient and wild-type mice on a test battery assessing sensorimotor, affective, and cognitive behaviors // Behavioral neuroscience. — 2004. — V. 118, № 3. — P. 643.
434. Schmitt W. B., Deacon R. M., Reisel D., Sprengel R., Seeburg P. H., Rawlins J. N. P., Bannerman D. Spatial reference memory in GluR-A-deficient mice using a novel hippocampal-dependent paddling pool escape task // Hippocampus. — 2004. — V. 14, № 2. — P. 216-223.
435. Zhang J., Abdullah J. M. The role of GluA1 in central nervous system disorders // Reviews in the Neurosciences. — 2013. — V. 24, № 5. — P. 499-505.
436. Alt A., Nisenbaum E. S., Bleakman D., Witkin J. M. A role for AMPA receptors in mood disorders // Biochemical pharmacology. — 2006. — V. 71, № 9. — P. 1273-1288.
437. Freudenberg F., Celikel T., Reif A. The role of α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptors in depression: central mediators of pathophysiology and antidepressant activity? // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2015. — V. 52. — P. 193-206.

438. Bartanusz V., Aubry J.-M., Pagliusi S., Jezova D., Baffi J., Kiss J. Z. Stress-induced changes in messenger RNA levels of N-methyl-D-aspartate and AMPA receptor subunits in selected regions of the rat hippocampus and hypothalamus // Neuroscience. — 1995. — V. 66, № 2. — P. 247-252.
439. Rosa M. L. N. M., Guimarães F. S., Pearson R. C. A., Del Bel E. A. Effects of single or repeated restraint stress on GluR1 and GluR2 flip and flop mRNA expression in the hippocampal formation // Brain research bulletin. — 2002. — V. 59, № 2. — P. 117-124.
440. Yuen E. Y., Liu W., Karatsoreos I. N., Feng J., McEwen B. S., Yan Z. Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2009. — V. 106, № 33. — P. 14075-14079.
441. Yuen E. Y., Liu W., Karatsoreos I. N., Ren Y., Feng J., McEwen B. S., Yan Z. Mechanisms for acute stress-induced enhancement of glutamatergic transmission and working memory // Molecular psychiatry. — 2011. — V. 16, № 2. — P. 156-170.
442. Moench K. M., Breach M. R., Wellman C. L. Prior stress followed by a novel stress challenge results in sex-specific deficits in behavioral flexibility and changes in gene expression in rat medial prefrontal cortex // Hormones and behavior. — 2020. — V. 117. — P. 104615.
443. Li N., Liu R.-J., Dwyer J. M., Banasr M., Lee B., Son H., Li X.-Y., Aghajanian G., Duman R. S. Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure // Biological psychiatry. — 2011. — V. 69, № 8. — P. 754-761.
444. Gao L., Liu X., Yu L., Wu J., Xu M., Liu Y. Folic acid exerts antidepressant effects by upregulating brain-derived neurotrophic factor and glutamate receptor 1 expression in brain // Neuroreport. — 2017. — V. 28, № 16. — P. 1078-1084.
445. Schwendt M., Ježová D. Gene expression of two glutamate receptor subunits in response to repeated stress exposure in rat hippocampus // Cellular and Molecular Neurobiology. — 2000. — V. 20, № 3. — P. 319-329.
446. Qin Y., Karst H., Joels M. Chronic unpredictable stress alters gene expression in rat single dentate granule cells // Journal of neurochemistry. — 2004. — V. 89, № 2. — P. 364-374.
447. Toth E., Gersner R., Wilf-Yarkoni A., Raizel H., Dar D. E., Richter-Levin G., Levit O., Zangen A. Age-dependent effects of chronic stress on brain plasticity and depressive behavior // Journal of neurochemistry. — 2008. — V. 107, № 2. — P. 522-532.
448. Yuen E. Y., Wei J., Liu W., Zhong P., Li X., Yan Z. Repeated stress causes cognitive impairment by suppressing glutamate receptor expression and function in prefrontal cortex // Neuron. — 2012. — V. 73, № 5. — P. 962-977.
449. Duric V., Banasr M., Stockmeier C. A., Simen A. A., Newton S. S., Overholser J. C., Jurjus G. J., Dieter L., Duman R. S. Altered expression of synapse and glutamate related genes in post-mortem hippocampus of depressed subjects // International Journal of Neuropsychopharmacology. — 2013. — V. 16, № 1. — P. 69-82.
450. Kallarackal A. J., Kvarta M. D., Cammarata E., Jaberi L., Cai X., Bailey A. M., Thompson S. M. Chronic stress induces a selective decrease in AMPA receptor-mediated synaptic excitation at hippocampal temporoammonic-CA1 synapses // Journal of Neuroscience. — 2013. — V. 33, № 40. — P. 15669-15674.
451. Li N., Lee B., Liu R.-J., Banasr M., Dwyer J. M., Iwata M., Li X.-Y., Aghajanian G., Duman R. S. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists // Science. — 2010. — V. 329, № 5994. — P. 959-964.
452. Tan C.-H., He X., Yang J., Ong W.-Y. Changes in AMPA subunit expression in the mouse brain after chronic treatment with the antidepressant maprotiline: a link between noradrenergic and glutamatergic function? // Experimental brain research. — 2006. — V. 170, № 4. — P. 448-456.
453. Martínez-Turrillas R., Del Río J., Frechilla D. Sequential changes in BDNF mRNA expression and synaptic levels of AMPA receptor subunits in rat hippocampus after chronic antidepressant treatment // Neuropharmacology. — 2005. — V. 49, № 8. — P. 1178-1188.

454. Martinez-Turrillas R., Frechilla D., Del Río J. Chronic antidepressant treatment increases the membrane expression of AMPA receptors in rat hippocampus // Neuropharmacology. — 2002. — V. 43, № 8. — P. 1230-1237.
455. Barbon A., Caracciolo L., Orlandi C., Musazzi L., Mallei A., La Via L., Bonini D., Mora C., Tardito D., Gennarelli M. Chronic antidepressant treatments induce a time-dependent up-regulation of AMPA receptor subunit protein levels // Neurochemistry international. — 2011. — V. 59, № 6. — P. 896-905.
456. Zanin-Zhorov A., Lin J., Scher J., Kumari S., Blair D., Hippen K. L., Blazar B. R., Abramson S. B., Lafaille J. J., Dustin M. L. Scaffold protein Disc large homolog 1 is required for T-cell receptor-induced activation of regulatory T-cell function // Proc Natl Acad Sci U S A. — 2012. — Jan 31. — V. 109, № 5. — P. 1625-30.
457. Liu W., Chen E., Zhao X. W., Wan Z. P., Gao Y. R., Davey A., Huang E., Zhang L., Crocetti J., Sandoval G., Joyce M. G., Miceli C., Lukszo J., Aravind L., Swat W., Brzostowski J., Pierce S. K. The scaffolding protein synapse-associated protein 97 is required for enhanced signaling through isotype-switched IgG memory B cell receptors // Sci Signal. — 2012. — Jul 31. — V. 5, № 235. — P. ra54.
458. Muller B. M., Kistner U., Veh R. W., Cases-Langhoff C., Becker B., Gundelfinger E. D., Garner C. C. Molecular characterization and spatial distribution of SAP97, a novel presynaptic protein homologous to SAP90 and the Drosophila discs-large tumor suppressor protein // J Neurosci. — 1995. — Mar. — V. 15, № 3 Pt 2. — P. 2354-66.
459. Funke L., Dakoji S., Bredt D. S. Membrane-associated guanylate kinases regulate adhesion and plasticity at cell junctions // Annu Rev Biochem. — 2005. — V. 74. — P. 219-45.
460. Freudenberg F. Quantitative analysis of Gria1, Gria2, Dlg1 and Dlg4 expression levels in hippocampus following forced swim stress in mice // Sci Rep. — 2019. — Oct 1. — V. 9, № 1. — P. 14060.
461. Kim E., Sheng M. PDZ domain proteins of synapses // Nat Rev Neurosci. — 2004. — Oct. — V. 5, № 10. — P. 771-81.
462. Nakagawa T., Futai K., Lashuel H. A., Lo I., Okamoto K., Walz T., Hayashi Y., Sheng M. Quaternary structure, protein dynamics, and synaptic function of SAP97 controlled by L27 domain interactions // Neuron. — 2004. — Oct 28. — V. 44, № 3. — P. 453-67.
463. Berman R. M., Cappiello A., Anand A., Oren D. A., Heninger G. R., Charney D. S., Krystal J. H. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients // Biol Psychiatry. — 2000. — Feb 15. — V. 47, № 4. — P. 351-4.
464. Gould T. D., O'Donnell K. C., Dow E. R., Du J., Chen G., Manji H. K. Involvement of AMPA receptors in the antidepressant-like effects of lithium in the mouse tail suspension test and forced swim test // Neuropharmacology. — 2008. — Mar. — V. 54, № 3. — P. 577-87.
465. Berx G., Becker K. F., Höfler H., Van Roy F. Mutations of the human E-cadherin (CDH1) gene // Human mutation. — 1998. — V. 12, № 4. — P. 226-237.
466. Shapiro L., Weis W. I. Structure and biochemistry of cadherins and catenins // Cold Spring Harbor perspectives in biology. — 2009. — V. 1, № 3. — P. a003053.
467. Perez-Moreno M., Fuchs E. Catenins: keeping cells from getting their signals crossed // Developmental cell. — 2006. — V. 11, № 5. — P. 601-612.
468. Tian X., Liu Z., Niu B., Zhang J., Tan T. K., Lee S. R., Zhao Y., Harris D. C., Zheng G. E-cadherin/β-catenin complex and the epithelial barrier // Journal of Biomedicine and Biotechnology. — 2011. — V. 2011.
469. Teo C. H., Soga T., Parhar I. S. Brain beta-catenin signalling during stress and depression // Neurosignals. — 2018. — V. 26, № 1. — P. 31-42.
470. Wang J., Chen Y., Gu D., Zhang G., Chen J., Zhao J., Wu P. Ketamine-induced bladder fibrosis involves epithelial-to-mesenchymal transition mediated by transforming growth factor-β1 // American Journal of Physiology-Renal Physiology. — 2017. — V. 313, № 4. — P. F961-F972.

471. Chang H.-Y., Chen S.-L., Shen M.-R., Kung M.-L., Chuang L.-M., Chen Y.-W. Selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine, impairs E-cadherin-mediated cell adhesion and alters calcium homeostasis in pancreatic beta cells // Scientific reports. — 2017. — V. 7, № 1. — P. 1-13.
472. Lin E.-J. D., Sun M., Choi E. Y., Magee D., Stets C. W., During M. J. Social overcrowding as a chronic stress model that increases adiposity in mice // Psychoneuroendocrinology. — 2015. — V. 51. — P. 318-330.
473. Roltsch E. A., Baynes B. B., Mayeux J. P., Whitaker A. M., Baiamonte B. A., Gilpin N. W. Predator odor stress alters corticotropin-releasing factor-1 receptor (CRF1R)-dependent behaviors in rats // Neuropharmacology. — 2014. — V. 79. — P. 83-89.
474. Fischer C. P., Franco L. A., Romero L. M. Are novel objects perceived as stressful? The effect of novelty on heart rate // Physiology & behavior. — 2016. — V. 161. — P. 7-14.
475. Lucca G., Comim C. M., Valvassori S. S., Réus G. Z., Vuolo F., Petronilho F., Dal-Pizzol F., Gavioli E. C., Quevedo J. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain // Neurochemistry international. — 2009. — V. 54, № 5-6. — P. 358-362.
476. Pucilowski O., Overstreet D. H., Rezvani A. H., Janowsky D. S. Chronic mild stress-induced anhedonia: greater effect in a genetic rat model of depression // Physiology & Behavior. — 1993. — V. 54, № 6. — P. 1215-1220.
477. Hall C. S. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity // Journal of Comparative Psychology. — 1936. — V. 22, № 3. — P. 345.
478. Golbidi S., Frisbee J. C., Laher I. Chronic stress impacts the cardiovascular system: animal models and clinical outcomes // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. — 2015. — V. 308, № 12. — P. H1476-H1498.
479. Khasar S. G., Dina O. A., Green P. G., Levine J. D. Sound stress–induced long-term enhancement of mechanical hyperalgesia in rats is maintained by sympathoadrenal catecholamines // The Journal of Pain. — 2009. — V. 10, № 10. — P. 1073-1077.
480. Dunphy-Doherty F., O'Mahony S. M., Peterson V. L., O'Sullivan O., Crispie F., Cotter P. D., Wigmore P., King M. V., Cryan J. F., Fone K. C. Post-weaning social isolation of rats leads to long-term disruption of the gut microbiota-immune-brain axis // Brain, behavior, and immunity. — 2018. — V. 68. — P. 261-273.
481. Sequeira-Cordero A., Salas-Bastos A., Fornaguera J., Brenes J. Behavioural characterisation of chronic unpredictable stress based on ethologically relevant paradigms in rats // Scientific reports. — 2019. — V. 9, № 1. — P. 1-21.
482. Love M. I., Anders S., Huber W. Analyzing RNA-seq data with DESeq2, 2019.

Приложение А. Статистические и методологические таблицы

Таблица А.1. Результаты подобранных Обобщенных Линейных Моделей (ОЛМ) используя неделю, группу и их взаимодействие в качестве предикторов для сравнения групп ХНС и контрольной группы на неделях 1-5 [192]. Скорректированный Информационный Критерий Акаике был использован для определения модели с наибольшим соответствием между распределением Гаусса (идентичная связь), распределением Пуассона (обратная и логарифмическая связь) и обратным распределением Гаусса (с обратной и логарифмической связью) для теста незнакомого аквариума (ТНА), теста темно-светлого аквариума (ТСА), теста на построение косяка (ПК) и теста подвешивания за хвост (ТПХ) и нейрохимических показателей (см. также Таблицу 7 и Рис. 8-9). 5-HIAA - 5-гидроксииндолеуксусная кислота, DOPAC - 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота, HVA – гомованиловая кислота.

Предиктор	b	**95% CI**	$t(170)$	p
ТНА Дистанция, см распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	967,68	[809,91, 1,125,45]	12,02	< ,001
Неделя 2	187,50	[−35,63, 410,62]	1,65	,101
Неделя 3	311,84	[88,72, 534,96]	2,74	,007
Неделя 4	313,39	[72,39, 554,39]	2,55	,012
Неделя 5	37,86	[−203,14, 278,85]	0,31	,759
ХНС	538,17	[315,05, 761,29]	4,73	< ,001
Неделя 2 × ХНС	30,89	[−284,65, 346,43]	0,19	,848
Неделя 3 × ХНС	-352,43	[−667,97, −36,89]	-2,19	,030
Неделя 4 × ХНС	-339,79	[−680,61, 1,03]	-1,95	,052
Неделя 5 × ХНС	-137,98	[−478,80, 202,84]	-0,79	,429
ТНА Время, проведенное наверху, сек обратное распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	3,75	[3,22, 4,98]	10,43	< ,001
Неделя 2	-0,53	[−1,81, 0,40]	-1,18	,241
Неделя 3	-0,77	[−2,04, 0,07]	-1,77	,079
Неделя 4	-0,99	[−2,26, −0,13]	-2,26	,025
Неделя 5	-0,07	[−1,40, 1,54]	-0,13	,896
ХНС	-0,84	[−2,10, −0,02]	-1,95	,053
Неделя 2 × ХНС	-0,38	[−1,46, 0,96]	-0,71	,480
Неделя 3 × ХНС	1,17	[0,07, 2,56]	2,03	,043
Неделя 4 × ХНС	0,73	[−0,35, 2,10]	1,32	,190
Неделя 5 × ХНС	0,19	[−1,50, 1,65]	0,28	,777
ТНА Время, проведенное наверху, сек распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	265,35	[239,39, 291,32]	20,03	< ,001
Неделя 2	-129,30	[-166,03, -92,58]	-6,90	< ,001
Неделя 3	-69,49	[-106,22, -32,77]	-3,71	< ,001
Неделя 4	-108,22	[-147,89, -68,55]	-5,35	< ,001
Неделя 5	-100,75	[-140,41, -61,08]	-4,98	< ,001
ХНС	-69,14	[-105,87, -32,42]	-3,69	< ,001
Неделя 2 × ХНС	-23,19	[-75,12, 28,75]	-0,87	,383
Неделя 3 × ХНС	-78,34	[-130,28, -26,40]	-2,96	,004
Неделя 4 × ХНС	-28,01	[-84,11, 28,09]	-0,98	,329
Неделя 5 × ХНС	-69,98	[-126,08, -13,88]	-2,45	,016
ТНА число выходов на верх, распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	4,35	[0,63, 8,07]	2,29	,023
Неделя 2	9,70	[4,44, 14,96]	3,61	< ,001
Неделя 3	9,70	[4,44, 14,96]	3,61	< ,001
Неделя 4	11,05	[5,37, 16,73]	3,81	< ,001
Неделя 5	3,92	[−1,77, 9,60]	1,35	,179
ХНС	9,45	[4,19, 14,71]	3,52	,001
Неделя 2 × ХНС	-13,50	[−20,94, −6,06]	-3,55	< ,001
Неделя 3 × ХНС	-12,15	[−19,59, −4,71]	-3,20	,002
Неделя 4 × ХНС	-13,72	[−21,76, −5,68]	-3,34	,001
Неделя 5 × ХНС	-12,58	[−20,62, −4,54]	-3,07	,003
ТНА латентный период выхода на верх, распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	28,97	[−6,82, 64,76]	1,59	,114
Неделя 2	26,05	[−24,56, 76,67]	1,01	,315
Неделя 3	26,15	[−24,46, 76,77]	1,01	,313
Неделя 4	25,64	[−29,03, 80,31]	0,92	,359
Неделя 5	17,29	[−37,38, 71,96]	0,62	,536
ХНС	19,34	[−31,28, 69,95]	0,75	,455
Неделя 2 × ХНС	63,67	[−7,91, 135,25]	1,74	,083
Неделя 3 × ХНС	46,57	[−25,01, 118,14]	1,28	,204

Неделя 4 × ХНС	5,08	[−72,23, 82,40]	0,13	,898
Неделя 5 × ХНС	111,87	[34,55, 189,18]	2,84	,005
ТСА время, проведенное в светлой части, сек, распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	236,30	[198,40, 274,20]	12,22	< ,001
Неделя 2	-41,80	[−95,40, 11,80]	-1,53	,128
Неделя 3	-53,75	[−107,35, −0,15]	-1,97	,051
Неделя 4	-77,50	[−135,40, −19,60]	-2,62	,009
Неделя 5	-82,23	[−140,13, −24,34]	-2,78	,006
ХНС	-141,20	[−194,80, −87,60]	-5,16	< ,001
Неделя 2 × ХНС	29,10	[−46,70, 104,90]	0,75	,453
Неделя 3 × ХНС	81,05	[5,25, 156,85]	2,10	,038
Неделя 4 × ХНС	143,40	[61,52, 225,28]	3,43	,001
Неделя 5 × ХНС	122,53	[40,66, 204,41]	2,93	,004
ТСА число выходов в светлую часть, распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	6,50	[3,82, 9,18]	4,75	< ,001
Неделя 2	0,20	[−3,59, 3,99]	0,10	,918
Неделя 3	4,35	[0,56, 8,14]	2,25	,026
Неделя 4	3,63	[−0,46, 7,73]	1,74	,084
Неделя 5	1,83	[−2,26, 5,93]	0,88	,382
ХНС	-0,70	[−4,49, 3,09]	-0,36	,718
Неделя 2 × ХНС	0,85	[−4,51, 6,21]	0,31	,756
Неделя 3 × ХНС	-2,85	[−8,21, 2,51]	-1,04	,299
Неделя 4 × ХНС	-2,17	[−7,96, 3,63]	-0,73	,464
Неделя 5 × ХНС	0,43	[−5,36, 6,23]	0,15	,884
ПК среднее расстояние между рыбами, см распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	1,40	[1,26, 1,56]	17,90	< ,001
Неделя 2	0,05	[−0,17, 0,27]	0,42	,672
Неделя 3	0,18	[−0,04, 0,42]	1,59	,113
Неделя 4	0,18	[−0,06, 0,44]	1,46	,146
Неделя 5	0,35	[0,10, 0,63]	2,66	,008
ХНС	0,00	[−0,22, 0,22]	0,00	,998
Неделя 2 × ХНС	-0,18	[−0,48, 0,13]	-1,15	,250
Неделя 3 × ХНС	-0,21	[−0,52, 0,11]	-1,30	,194
Неделя 4 × ХНС	-0,28	[−0,62, 0,06]	-1,61	,109
Неделя 5 × ХНС	-0,39	[−0,75, −0,04]	-2,19	,030
ПК расстояние до поверхности, см распределение гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	11,34	[9,41, 13,27]	11,51	< ,001
Неделя 2	-4,92	[−7,65, −2,19]	-3,53	,001
Неделя 3	-3,06	[−5,79, −0,33]	-2,20	,029
Неделя 4	0,75	[−2,19, 3,70]	0,50	,617
Неделя 5	-3,73	[−6,68, −0,78]	-2,48	,014
ХНС	-5,40	[−8,13, −2,67]	-3,87	< ,001
Неделя 2 × ХНС	11,15	[7,29, 15,01]	5,66	< ,001
Неделя 3 × ХНС	6,34	[2,48, 10,20]	3,22	,001
Неделя 4 × ХНС	5,12	[0,95, 9,29]	2,41	,017
Неделя 5 × ХНС	8,44	[4,27, 12,61]	3,97	< ,001
ТПХ время, проведенное в активности, сек распределение гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	49,92	[26,42, 73,41]	4,16	< ,001
Неделя 2	18,06	[−15,16, 51,28]	1,07	,288
Неделя 3	-18,90	[−52,12, 14,33]	-1,11	,267
Неделя 4	5,23	[−30,66, 41,11]	0,29	,776
Неделя 5	-6,18	[−42,07, 29,70]	-0,34	,736
ХНС	-34,98	[−68,20, −1,76]	-2,06	,041
Неделя 2 × ХНС	32,74	[−14,24, 79,72]	1,37	,174
Неделя 3 × ХНС	101,50	[54,51, 148,48]	4,23	< ,001
Неделя 4 × ХНС	22,28	[−28,46, 73,03]	0,86	,391
Неделя 5 × ХНС	45,77	[−4,97, 96,52]	1,77	,079
Дофамин, пг/мг, обратное распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	5,55	[5,33, 5,83]	44,47	< ,001
Неделя 2	-0,12	[−0,47, 0,22]	-0,71	,479
Неделя 3	0,02	[−0,33, 0,38]	0,12	,901
Неделя 4	-0,20	[−0,54, 0,13]	-1,17	,244
Неделя 5	-0,02	[−0,38, 0,33]	-0,14	,887
ХНС	-0,04	[−0,39, 0,31]	-0,23	,816
Неделя 2 × ХНС	0,22	[−0,27, 0,71]	0,89	,375
Неделя 3 × ХНС	0,22	[−0,29, 0,73]	0,85	,400
Неделя 4 × ХНС	-0,05	[−0,52, 0,41]	-0,22	,828
Неделя 5 × ХНС	0,25	[−0,25, 0,76]	0,99	,323
Отношение DOPAC к дофамину, обратное распределение Гаусса, обратная связь				
Свободный коэффициент	9,00	[5,47, 12,52]	5,00	< ,001
Неделя 2	-2,57	[−7,19, 2,05]	-1,09	,279
Неделя 3	0,49	[−4,57, 5,54]	0,19	,851
Неделя 4	-1,40	[−6,19, 3,39]	-0,57	,569

Неделя 5	0,29	[−4,74, 5,32]	0,11	,909
ХНС	0,85	[−4,26, 5,95]	0,33	,745
Неделя 2 × ХНС	-1,46	[−8,02, 5,09]	-0,44	,663
Неделя 3 × ХНС	4,68	[−3,06, 12,43]	1,19	,239
Неделя 4 × ХНС	0,17	[−6,80, 7,13]	0,05	,962
Неделя 5 × ХНС	-2,29	[−9,35, 4,76]	-0,64	,525
DOPAC, пг/мг обратное распределение Гаусса,логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	3,37	[3,02, 3,93]	15,43	< ,001
Неделя 2	0,10	[−0,57, 0,79]	0,32	,752
Неделя 3	-0,06	[−0,71, 0,59]	-0,18	,856
Неделя 4	-0,06	[−0,71, 0,58]	-0,19	,849
Неделя 5	-0,14	[−0,79, 0,48]	-0,47	,639
ХНС	-0,26	[−0,90, 0,33]	-0,91	,368
Неделя 2 × ХНС	0,36	[−0,53, 1,29]	0,82	,415
Неделя 3 × ХНС	-0,02	[−0,84, 0,81]	-0,04	,967
Неделя 4 × ХНС	0,05	[−0,78, 0,88]	0,12	,904
5-HIAA, пг/мг оратное распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	5,24	[4,97, 5,63]	32,47	< ,001
Неделя 2	-0,28	[−0,73, 0,14]	-1,31	,193
Неделя 3	0,02	[−0,45, 0,49]	0,07	,941
Неделя 4	-0,05	[−0,51, 0,41]	-0,20	,842
Неделя 5	-0,15	[−0,61, 0,29]	-0,69	,489
ХНС	-0,15	[−0,61, 0,29]	-0,69	,495
Неделя 2 × ХНС	0,62	[0,00, 1,27]	1,96	,053
Неделя 3 × ХНС	-0,22	[−0,84, 0,38]	-0,73	,469
Неделя 4 × ХНС	-0,45	[−1,05, 0,14]	-1,52	,132
Неделя 5 × ХНС	0,20	[−0,40, 0,82]	0,67	,507
Отношение 5-HIAA к серотонину, обратное распределение Гаусса обратная связь				
Свободный коэффициент	1,58	[1,03, 2,14]	5,58	< ,001
Неделя 2	0,28	[−0,54, 1,10]	0,68	,501
Неделя 3	-0,11	[−0,89, 0,66]	-0,28	,777
Неделя 4	-0,30	[−1,05, 0,45]	-0,78	,436
Неделя 5	-0,07	[−0,85, 0,71]	-0,17	,868
ХНС	-0,03	[−0,82, 0,75]	-0,09	,932
Неделя 2 × ХНС	-0,80	[−1,89, 0,28]	-1,45	,151
Неделя 3 × ХНС	1,46	[0,25, 2,67]	2,36	,020
Неделя 4 × ХНС	1,06	[−0,09, 2,21]	1,81	,073
Неделя 5 × ХНС	0,51	[−0,63, 1,65]	0,88	,384
Серотонин пг/мг, обратное распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	5,73	[5,50, 6,04]	42,77	< ,001
Неделя 2	-0,09	[−0,47, 0,28]	-0,48	,635
Неделя 3	-0,03	[−0,41, 0,35]	-0,18	,861
Неделя 4	-0,10	[−0,48, 0,27]	-0,53	,596
Неделя 5	-0,14	[−0,51, 0,23]	-0,76	,449
ХНС	-0,11	[−0,49, 0,26]	-0,61	,544
Неделя 2 × ХНС	0,10	[−0,41, 0,62]	0,40	,688
Неделя 3 × ХНС	0,37	[−0,16, 0,92]	1,36	,178
Неделя 4 × ХНС	-0,01	[−0,51, 0,50]	-0,03	,976
Неделя 5 × ХНС	0,49	[−0,04, 1,04]	1,82	,072
Отношение HVA к дофамину, обратное распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	37,70	[20,26, 55,14]	4,24	< ,001
Неделя 2	6,21	[−19,45, 31,86]	0,47	,637
Неделя 3	19,85	[−7,87, 47,57]	1,40	,164
Неделя 4	-2,00	[−26,33, 22,33]	-0,16	,872
Неделя 5	1,31	[−23,57, 26,19]	0,10	,918
ХНС	13,78	[−13,04, 40,61]	1,01	,317
Неделя 2 × ХНС	-26,30	[−62,72, 10,13]	-1,42	,160
Неделя 3 × ХНС	-5,22	[−46,65, 36,22]	-0,25	,806
Неделя 4 × ХНС	6,35	[−31,83, 44,54]	0,33	,745
Неделя 5 × ХНС	13,55	[−26,06, 53,16]	0,67	,504
HVA, пг/мг обратное распределение Гаусса, обратная связь				
Свободный коэффициент	0,15	[0,07, 0,22]	3,99	< ,001
Неделя 2	0,05	[−0,06, 0,15]	0,81	,418
Неделя 3	0,08	[−0,03, 0,20]	1,41	,163
Неделя 4	0,03	[−0,08, 0,13]	0,47	,638
Неделя 5	0,03	[−0,08, 0,14]	0,56	,579
ХНС	0,08	[−0,03, 0,20]	1,42	,159
Неделя 2 × ХНС	-0,13	[−0,29, 0,03]	-1,62	,109
Неделя 3 × ХНС	-0,10	[−0,27, 0,07]	-1,12	,267
Неделя 4 × ХНС	0,04	[−0,13, 0,22]	0,50	,620
Неделя 5 × ХНС	0,00	[−0,17, 0,17]	0,01	,990
Норэпинефрин, пг/мг распределение Гаусса, идентичная связь				
Свободный коэффициент	913,44	[678,49, 1,148,38]	7,62	< ,001

Неделя 2	-163,89	[−496,16, 168,37]	-0,97	,336
Неделя 3	-106,53	[−438,79, 225,73]	-0,63	,531
Неделя 4	-197,99	[−530,25, 134,27]	-1,17	,246
Неделя 5	105,58	[−226,69, 437,84]	0,62	,535
ХНС	-78,08	[−410,34, 254,18]	-0,46	,646
Неделя 2 × ХНС	254,60	[−215,29, 724,49]	1,06	,291
Неделя 3 × ХНС	463,23	[−6,67, 933,12]	1,93	,056
Неделя 4 × ХНС	100,21	[−369,68, 570,11]	0,42	,677
Неделя 5 × ХНС	310,81	[−159,08, 780,71]	1,30	,198

Таблица А.2. Результаты пост-хок теста Туки для статистически значимого по ANOVA предиктора группа обобщенной линейной модели (ОЛМ) сравнивающей эффекты ХНС и контрольной группы в течение 5 недель [192]. ТНА - тест незнакомого аквариума, ТСА - тест темно-светлого аквариума, ПК - тест на построение косяка и ТПХ - тест подвешивания за хвост (см. также Таблицу 7 и Рис. 8-9), 5-HIAA - 5-гидроксииндолеуксусная кислота.

Параметры	ΔM	**95% CI**	z	p
ТНА Дистанция, см	-378,31	[−484,54, −272,08]	-6,98	< ,001
ТНА Время неподвижности, сек	0,50	[0,15, 0,85]	2,80	,005
ТНА Время наверху, сек	109,05	[91,56, 126,53]	12,22	< ,001
ТНА Латентный период выхода на верх, сек	-64,77	[−88,87, −40,68]	-5,27	< ,001
ТСА Время, проведенное в светлой части, сек	65,98	[40,46, 91,50]	5,07	< ,001
ПК расстояние между рыбами, см	0,21	[0,10, 0,32]	3,87	< ,001
Отношение 5-HIAA к серотонину	-0,41	[−0,78, −0,04]	-2,18	,029

Таблица А.3. Результаты пост-хок теста Туки для статистически значимого по ANOVA предиктора неделя в обобщенной линейной модели (ОЛМ) сравнивающей эффекты ХНС и контрольной группы в течение 5 недель [192]. ТНА - тест незнакомого аквариума, ТСА - тест темно-светлого аквариума, ПК - тест на построение косяка и ТПХ - тест подвешивания за хвост (см. также Таблицу 7 и Рис. 8-9), DOPAC - 3,4-догидроксифенилуксусная кислота.

Сравнения (неделя - неделя)	ΔM	**95% CI**	z	p
ТНА Дистанция, см				
1 - 2	-202,94	[−360,71, −45,17]	-2,52	,012
1 - 3	-135,63	[−293,40, 22,14]	-1,68	,092
1 - 4	-143,49	[−313,90, 26,92]	-1,65	,099
1 - 5	31,14	[−139,28, 201,55]	0,36	,720
2 - 3	67,31	[−90,46, 225,08]	0,84	,403
2 - 4	59,44	[−110,97, 229,86]	0,68	,494
2 - 5	234,07	[63,66, 404,49]	2,69	,007
3 - 4	-7,87	[−178,28, 162,55]	-0,09	,928
3 - 5	166,76	[−3,65, 337,17]	1,92	,055
4 - 5	174,63	[−7,55, 356,81]	1,88	,060
ТНА Время неподвижности, сек				
1 – 2	0,72	[0,20, 1,24]	2,71	,007
1 – 3	0,19	[−0,38, 0,75]	0,65	,517
1 – 4	0,63	[0,09, 1,17]	2,27	,023
1 – 5	-0,02	[−0,67, 0,62]	-0,07	,945
2 – 3	-0,54	[−1,02, −0,05]	-2,18	,029
2 – 4	-0,09	[−0,55, 0,37]	-0,40	,688
2 – 5	-0,75	[−1,32, −0,17]	-2,54	,011
3 – 4	0,44	[−0,06, 0,95]	1,72	,085
3 – 5	-0,21	[−0,82, 0,40]	-0,67	,503
4 – 5	-0,65	[−1,24, −0,06]	-2,15	,031
ТНА Время наверху, сек				
1 – 2	140,90	[114,93, 166,87]	10,63	< ,001
1 – 3	108,66	[82,69, 134,63]	8,20	< ,001
1 – 4	122,22	[94,17, 150,27]	8,54	< ,001
1 – 5	135,74	[107,69, 163,79]	9,48	< ,001
2 – 3	-32,23	[−58,20, −6,27]	-2,43	,015
2 – 4	-18,67	[−46,72, 9,38]	-1,30	,192
2 – 5	-5,16	[−33,21, 22,89]	-0,36	,718
3 – 4	13,56	[−14,49, 41,61]	0,95	,343
3 – 5	27,08	[−0,97, 55,12]	1,89	,059
4 – 5	13,51	[−16,47, 43,50]	0,88	,377
ТНА число выходов на верх				

1 – 2	-2,95	[−6,67, 0,77]	-1,55	,120
1 – 3	-3,63	[−7,35, 0,10]	-1,91	,056
1 – 4	-4,19	[−8,21, −0,17]	-2,04	,041
1 – 5	2,37	[−1,64, 6,39]	1,16	,247
2 – 3	-0,68	[−4,40, 3,05]	-0,36	,722
2 – 4	-1,24	[−5,26, 2,78]	-0,61	,545
2 – 5	5,32	[1,31, 9,34]	2,60	,009
3 – 4	-0,57	[−4,59, 3,45]	-0,28	,782
3 – 5	6,00	[1,98, 10,02]	2,93	,003
4 – 5	6,57	[2,27, 10,86]	3,00	,003
ТНА Латентный период выхода на верх, сек				
1 - 2	-57,89	[−93,68, −22,10]	-3,17	,002
1 - 3	-49,43	[−85,22, −13,65]	-2,71	,007
1 - 4	-28,18	[−66,84, 10,48]	-1,43	,153
1 - 5	-73,22	[−111,88, −34,56]	-3,71	< ,001
2 - 3	8,45	[−27,34, 44,24]	0,46	,644
2 - 4	29,71	[−8,95, 68,37]	1,51	,132
2 - 5	-15,33	[−53,99, 23,32]	-0,78	,437
3 - 4	21,26	[−17,40, 59,91]	1,08	,281
3 - 5	-23,79	[−62,44, 14,87]	-1,21	,228
4 - 5	-45,04	[−86,37, −3,72]	-2,14	,033
ПК расстояние до поверхности, см				
1 - 2	-0,66	[−2,59, 1,27]	-0,67	,504
1 - 3	-0,11	[−2,04, 1,82]	-0,11	,909
1 - 4	-3,31	[−5,40, −1,23]	-3,11	,002
1 - 5	-0,49	[−2,58, 1,59]	-0,46	,645
2 - 3	0,55	[−1,38, 2,48]	0,56	,579
2 - 4	-2,65	[−4,74, −0,57]	-2,50	,013
2 - 5	0,17	[−1,92, 2,25]	0,16	,874
3 - 4	-3,20	[−5,29, −1,12]	-3,01	,003
3 - 5	-0,38	[−2,46, 1,71]	-0,36	,722
4 - 5	2,82	[0,59, 5,05]	2,48	,013
ТПХ, время активности, сек				
1 - 2	-34,43	[−57,92, −10,94]	-2,87	,004
1 - 3	-31,85	[−55,34, −8,36]	-2,66	,008
1 - 4	-16,37	[−41,74, 9,00]	-1,26	,206
1 - 5	-16,70	[−42,08, 8,67]	-1,29	,197
2 - 3	2,58	[−20,92, 26,07]	0,21	,830
2 - 4	18,06	[−7,31, 43,43]	1,39	,163
2 - 5	17,72	[−7,65, 43,10]	1,37	,171
3 - 4	15,48	[−9,89, 40,86]	1,20	,232
3 - 5	15,15	[−10,22, 40,52]	1,17	,242
4 - 5	-0,33	[−27,46, 26,79]	-0,02	,981
Дофамин, пг/мг				
1 - 2	0,01	[−0,23, 0,25]	0,10	,923
1 - 3	-0,13	[−0,38, 0,12]	-1,02	,309
1 - 4	0,22	[−0,01, 0,45]	1,90	,057
1 - 5	-0,10	[−0,35, 0,15]	-0,80	,426
2 - 3	-0,14	[−0,39, 0,11]	-1,11	,266
2 - 4	0,21	[−0,02, 0,44]	1,80	,071
2 - 5	-0,11	[−0,36, 0,14]	-0,89	,372
3 - 4	0,35	[0,11, 0,59]	2,90	,004
3 - 5	0,03	[−0,23, 0,29]	0,22	,825
4 - 5	-0,32	[−0,56, −0,09]	-2,68	,007
Отношение DOPAC к дофамину				
1 - 2	3,30	[0,02, 6,58]	1,97	,049
1 - 3	-2,83	[−6,70, 1,04]	-1,43	,152
1 - 4	1,31	[−2,17, 4,79]	0,74	,460
1 - 5	0,85	[−2,67, 4,38]	0,47	,635
2 - 3	-6,13	[−9,69, −2,56]	-3,37	,001
2 - 4	-1,99	[−5,12, 1,15]	-1,24	,214
2 - 5	-2,45	[−5,63, 0,74]	-1,50	,133
3 - 4	4,14	[0,39, 7,89]	2,16	,031
3 - 5	3,68	[−0,11, 7,48]	1,90	,057
4 - 5	-0,46	[−3,85, 2,94]	-0,26	,792
Норэпинефрин, пг/мг				
1 - 2	36,59	[−198,35, 271,54]	0,31	,760
1 - 3	-125,08	[−360,03, 109,86]	-1,04	,297
1 - 4	147,88	[−87,06, 382,83]	1,23	,217
1 - 5	-260,98	[−495,93, −26,04]	-2,18	,029
2 - 3	-161,68	[−396,62, 73,27]	-1,35	,177
2 - 4	111,29	[−123,65, 346,24]	0,93	,353
2 - 5	-297,58	[−532,52, −62,63]	-2,48	,013

3 - 4	272,97	[38,02, 507,91]	2,28	,023
3 - 5	-135,90	[−370,85, 99,04]	-1,13	,257
4 - 5	-408,87	[−643,81, −173,92]	-3,41	,001

Таблица А.4. Результаты пост-хок теста Туки для статистически значимого по ANOVA предиктора взаимодействия группа х неделя обобщенной линейной модели (ОЛМ) сравнивающей эффекты ХНС и контрольной группы в течение 5 недель [192]. ТНА - тест незнакомого аквариума, ТСА - тест темно-светлого аквариума, ПК - тест на построение косяка и ТПХ - тест подвешивания за хвост (см. также Таблицу 7 и Рис. 8-9), 5-HIAA - 5-гидроксииндолеуксусная кислота.

Сравнения (группа – группа, внутри одной недели)	***ΔM***	**95% CI**	***z***	***p***
ТНА Время неподвижности, сек				
1,Контроль - 1,ХНС	0,84	[0,00, 1,68]	1,95	,051
2,Контроль - 2,ХНС	1,22	[0,60, 1,83]	3,88	< ,001
3,Контроль - 3,ХНС	-0,33	[−1,07, 0,42]	-0,86	,388
4,Контроль - 4,ХНС	0,11	[−0,57, 0,79]	0,32	,751
5,Контроль - 5,ХНС	0,65	[−0,32, 1,62]	1,32	,186
ТНА Время наверху, сек				
1,Контроль - 1,ХНС	69,14	[32,42, 105,87]	3,69	< ,001
2,Контроль - 2,ХНС	92,33	[55,60, 129,05]	4,93	< ,001
3,Контроль - 3,ХНС	147,48	[110,75, 184,21]	7,87	< ,001
4,Контроль - 4,ХНС	97,15	[54,74, 139,56]	4,49	< ,001
5,Контроль - 5,ХНС	139,13	[96,72, 181,53]	6,43	< ,001
ТНА число выходов на верх				
1,Контроль - 1,ХНС	-9,45	[−14,71, −4,19]	-3,52	< ,001
2,Контроль - 2,ХНС	4,05	[−1,21, 9,31]	1,51	,131
3,Контроль - 3,ХНС	2,70	[−2,56, 7,96]	1,01	,315
4,Контроль - 4,ХНС	4,27	[−1,81, 10,34]	1,38	,169
5,Контроль - 5,ХНС	3,13	[−2,94, 9,21]	1,01	,312
ТНА Латентный период выхода на верх, сек				
1,Контроль - 1,ХНС	-19,34	[−69,95, 31,28]	-0,75	,454
2,Контроль - 2,ХНС	-83,01	[−133,62, −32,39]	-3,21	,001
3,Контроль - 3,ХНС	-65,90	[−116,52, −15,29]	-2,55	,011
4,Контроль - 4,ХНС	-24,42	[−82,86, 34,03]	-0,82	,413
5,Контроль - 5,ХНС	-131,20	[−189,65, −72,76]	-4,40	< ,001
ТСА Время, проведенное в светлой части, сек				
1,Контроль - 1,ХНС	141,20	[87,60, 194,80]	5,16	< ,001
2,Контроль - 2,ХНС	112,10	[58,50, 165,70]	4,10	< ,001
3,Контроль - 3,ХНС	60,15	[6,55, 113,75]	2,20	,028
4,Контроль - 4,ХНС	-2,20	[−64,09, 59,69]	-0,07	,944
5,Контроль - 5,ХНС	18,67	[−43,23, 80,56]	0,59	,554
ПК расстояние до поверхности, см				
1,Контроль - 1,ХНС	5,40	[2,67, 8,13]	3,87	< ,001
2,Контроль - 2,ХНС	-5,76	[−8,49, −3,03]	-4,13	< ,001
3,Контроль - 3,ХНС	-0,95	[−3,68, 1,78]	-0,68	,497
4,Контроль - 4,ХНС	0,28	[−2,87, 3,43]	0,17	,863
5,Контроль - 5,ХНС	-3,04	[−6,19, 0,11]	-1,89	,059
ТПХ, время активности, сек				
1,Контроль - 1,ХНС	34,98	[1,76, 68,20]	2,06	,039
2,Контроль - 2,ХНС	2,24	[−30,98, 35,46]	0,13	,895
3,Контроль - 3,ХНС	-66,52	[−99,74, −33,30]	-3,92	< ,001
4,Контроль - 4,ХНС	12,69	[−25,67, 51,05]	0,65	,517
5,Контроль - 5,ХНС	-10,80	[−49,16, 27,56]	-0,55	,581
5-HIAA, пг/мг				
1,Контроль - 1,ХНС	0,15	[−0,28, 0,58]	0,69	,493
2,Контроль - 2,ХНС	-0,47	[−0,91, −0,02]	-2,07	,038
3,Контроль - 3,ХНС	0,37	[−0,04, 0,79]	1,76	,078
4,Контроль - 4,ХНС	0,60	[0,22, 0,99]	3,05	,002
5,Контроль - 5,ХНС	-0,05	[−0,47, 0,37]	-0,25	,803
Отношение 5-HIAA к серотонину				
1,Контроль - 1,ХНС	0,03	[−0,75, 0,82]	0,09	,932
2,Контроль - 2,ХНС	0,84	[0,08, 1,59]	2,18	,029
3,Контроль - 3,ХНС	-1,43	[−2,35, −0,50]	-3,03	,002
4,Контроль - 4,ХНС	-1,03	[−1,87, −0,19]	-2,40	,016
5,Контроль - 5,ХНС	-0,47	[−1,30, 0,35]	-1,12	,261

Таблица А.5. Результаты подобранных Обобщенных Линейных Моделей (ОЛМ) используя группу в качестве предиктора для сравнения групп ХНС, флуоксетина и контрольной группы на

неделе 5 [192]. Скорректированный Информационный Критерий Акаике был использован для определения модели с наибольшим соответствием между распределением Гаусса (идентичная связь), распределением Пуассона (обратная и логарифмическая связь) и обратным распределением Гаусса (с обратной и логарифмической связью) для теста незнакомого аквариума (ТНА), теста темно-светлого аквариума (ТСА), теста на построение косяка (ПК) и теста подвешивания за хвост (ТПХ) и нейрохимических показателей (см. также Таблицу 8 и Рис. 8-9). 5-HIAA - 5-гидроксииндолеуксусная кислота, DOPAC - 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота, HVA – гомованиловая кислота.

Предиктор	b	**95% CI**	$t(42)$	p
ТПХ Время, проведенное активно, сек Распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	43,73	[18,90, 68,56]	3,45	,001
Флуоксетин	2,24	[−32,88, 37,36]	0,13	,901
Стресс	10,80	[−24,32, 45,92]	0,60	,550
ТНА Дистанция, см Распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	1,005,54	[835,31, 1,175,77]	11,58	< ,001
Флуоксетин	28,33	[-212,41, 269,06]	0,23	,819
Стресс	400,19	[159,45, 640,93]	3,26	,002
ПК расстояние между рыбами, см Распределение Гамма логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	1,75	[1,58, 1,94]	19,18	< ,001
Флуоксетин	-0,09	[−0,34, 0,17]	-0,67	,508
Стресс	-0,39	[−0,64, −0,14]	-3,01	,004
ТНА Время неподвижности, сек Распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	3,68	[3,20, 4,64]	11,72	< ,001
Флуоксетин	-0,53	[−1,55, 0,27]	-1,33	,192
Стресс	-0,65	[−1,67, 0,10]	-1,69	,099
ТНА время наверху, сек Распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	164,61	[131,03, 198,19]	9,61	< ,001
Флуоксетин	-41,10	[−88,59, 6,39]	-1,70	,097
Стресс	-139,13	[−186,61, −91,64]	-5,74	< ,001
ТНА Число выходов на верх Распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	8,27	[5,10, 11,43]	5,12	< ,001
Флуоксетин	0,27	[−4,21, 4,74]	0,12	,908
Стресс	-3,13	[−7,61, 1,34]	-1,37	,178
ТНА Латентный период выхода на верх Распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	46,26	[1,49, 91,03]	2,03	,049
Флуоксетин	31,44	[−31,88, 94,75]	0,97	,336
Стресс	131,20	[67,89, 194,52]	4,06	< ,001
ТСА Время, проведенное в светлой части, сек Распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	154,07	[113,70, 194,43]	7,48	< ,001
Флуоксетин	-8,07	[−65,15, 49,02]	-0,28	,783
Стресс	-18,67	[−75,75, 38,42]	-0,64	,525
ТСА Число выходов в светлую часть Распределение Гаусса идентичная связь				
Свободный коэффициент	8,33	[5,51, 11,16]	5,78	< ,001
Флуоксетин	-1,40	[−5,40, 2,60]	-0,69	,496
Стресс	-0,27	[−4,27, 3,73]	-0,13	,897
ПК Расстояние до поверхности, см Распределение Гамма обратная связь				
Свободный коэффициент	2,03	[1,78, 2,30]	15,23	< ,001
Флуоксетин	0,10	[−0,27, 0,47]	0,51	,613
Стресс	0,34	[−0,03, 0,71]	1,79	,080
Дофамин, пг/мг обратное Распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	5,52	[5,24, 5,91]	33,49	< ,001
Флуоксетин	0,06	[-0,42, 0,55]	0,25	,803
Стресс	0,21	[-0,28, 0,73]	0,86	,399
Отношение DOPAC к дофамину Распределение Гамма обратная связь				
Свободный коэффициент	9,29	[6,37, 12,99]	5,52	< ,001
Флуоксетин	-0,81	[-5,39, 3,68]	-0,35	,726
Стресс	-1,45	[-5,92, 2,85]	-0,66	,517
DOPAC пг/мг Распределение Гамма логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	3,23	[2,87, 3,65]	16,32	< ,001
Флуоксетин	0,20	[-0,36, 0,75]	0,70	,489
Стресс	0,37	[-0,18, 0,92]	1,32	,198
5-HIAA, пг/мг Распределение Гамма логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	5,09	[4,78, 5,44]	30,38	< ,001
Флуоксетин	-0,84	[-1,30, -0,37]	-3,52	,002
Стресс	0,05	[-0,41, 0,52]	0,23	,823
Отношение 5-HIAA к серотонину Распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	-0,42	[-0,82, 0,26]	-1,66	,108

Флуоксетин	-0,89	[-1,62, -0,34]	-2,98	,006
Стресс	-0,27	[-1,03, 0,41]	-0,82	,422
Серотонин, пг/мг обратное Распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	5,59	[5,34, 5,93]	37,89	< ,001
Флуоксетин	0,03	[-0,40, 0,46]	0,14	,886
Стресс	0,38	[-0,08, 0,87]	1,63	,114
Отношение HVA к дофамину обратное Распределение Гаусса обратная связь				
Свободный коэффициент	39,01	[21,75, 56,27]	4,43	< ,001
Флуоксетин	8,82	[-16,94, 34,57]	0,67	,508
Стресс	27,33	[-1,03, 55,70]	1,89	,070
HVA, пг/мг inverted Распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	1,73	[1,43, 2,18]	9,51	< ,001
Флуоксетин	-0,09	[-0,62, 0,43]	-0,36	,724
Стресс	-0,39	[-0,90, 0,07]	-1,66	,109
Норэпинефрин, пг/мг обратное Распределение Гаусса логарифмическая связь				
Свободный коэффициент	6,93	[6,66, 7,29]	44,75	< ,001
Флуоксетин	-0,01	[-0,45, 0,44]	-0,03	,980
Стресс	0,21	[-0,26, 0,69]	0,89	,381

Таблица А.6. Результаты статистического анализа для всех дифференциально экспрессируемых генов в трех проведенных анализах с использованием распределения Гамма-Пуассона с определением размера факторов, дисперсии и отрицательных биномиальных обобщенных линейных моделей, и теста Валда при помощи DESeq функции *[192]*. Р значение и коэффициент ложного обнаружения были установлены на 0,05. Гены в таблице отсортированы по уровню скорректированного р значения.

Ensembl	Имя гена	Норм.ср.	Измен.log2	Стд. ошиб.	Стат.	p	p adj
ХНС против контрольной группы							
ENSDARG00000093998	si:ch73-7i4.2	164,8442	5,686818	0,620534	9,164391	4,98E-20	1,21E-15
ENSDARG00000102639	si:dkey-29d5.2	41,03763	6,214117	0,924045	6,724906	1,76E-11	2,14E-07
ENSDARG00000079402	tapbp.1	144,5193	-1,78864	0,284994	-6,27605	3,47E-10	2,82E-06
ENSDARG00000094554	si:ch73-7i4.1	37,6995	4,12461	0,750041	5,499177	3,82E-08	0,000232
ENSDARG00000076586	csf2rb	50,70728	-1,85704	0,341433	-5,43895	5,36E-08	0,000248
ENSDARG00000090890	cmklr1	55,55607	-1,7606	0,325129	-5,41508	6,13E-08	0,000248
ENSDARG00000100302	si:dkey-237g15.2	108,2872	-3,08287	0,601631	-5,12419	2,99E-07	0,000891
ENSDARG00000102835	CABZ01021435.1	26,96331	-1,9449	0,380925	-5,10574	3,3E-07	0,000891
ENSDARG00000079034	zpax4	15,31746	2,711004	0,529375	5,121144	3,04E-07	0,000891
ENSDARG00000090637	myh6	13,27576	-5,20513	1,062621	-4,89839	9,66E-07	0,002138
ENSDARG00000069839	CU571382.1	29,63909	-3,33594	0,680015	-4,90569	9,31E-07	0,002138
ENSDARG00000053973	fetub	6,957216	3,670704	0,752827	4,875896	1,08E-06	0,002197
ENSDARG00000086374	isg15	261,0382	-3,83891	0,793292	-4,83921	1,3E-06	0,002263
ENSDARG00000104120	LO018260.1	67,36825	-1,21762	0,252712	-4,8182	1,45E-06	0,002263
ENSDARG00000077249	gmip	54,58877	-1,06096	0,221001	-4,80072	1,58E-06	0,002263
ENSDARG00000002988	tnnt2d	40,15867	2,050141	0,426229	4,809951	1,51E-06	0,002263
ENSDARG00000026979	krt1-c5	299,3362	7,251248	1,510097	4,801841	1,57E-06	0,002263
ENSDARG00000074136	slc47a2.2	13,28693	-4,82162	1,01405	-4,75481	1,99E-06	0,002306
ENSDARG00000014427	mxe	68,81475	-4,23896	0,891577	-4,75445	1,99E-06	0,002306
ENSDARG00000094719	CR318588.3	1227,035	-4,16004	0,869977	-4,78178	1,74E-06	0,002306
ENSDARG00000078389	ifi46	158,1358	-2,49557	0,522744	-4,77398	1,81E-06	0,002306
ENSDARG00000059294	marco	174,3955	-2,23722	0,476887	-4,6913	2,71E-06	0,002872
ENSDARG00000079997	si:zfos-223e1.2	33,87397	1,598868	0,3406	4,694269	2,68E-06	0,002872
ENSDARG00000087102	si:ch1073-164k15.3	54,19928	-4,9841	1,067979	-4,66685	3,06E-06	0,003101
ENSDARG00000055186	ccr9a	44,12408	-2,80143	0,603577	-4,64138	3,46E-06	0,003369
ENSDARG00000094386	adgrg4b	49,28134	8,419412	1,829425	4,602218	4,18E-06	0,003913

ENSDARG00000088251	lgals17	195,6001	-4,19997	0,922056	-4,55501	5,24E-06	0,004605
ENSDARG00000039490	pitpnaa	65,80556	-1,27998	0,281611	-4,54521	5,49E-06	0,004605
ENSDARG00000100732	si:dkeyp-93h6.1	24,14235	1,992828	0,437833	4,551574	5,32E-06	0,004605
ENSDARG00000029720	si:dkeyp-9d4.2	118,4261	-2,75882	0,609126	-4,52914	5,92E-06	0,004758
ENSDARG00000010946	cbsb	1229,743	-1,11274	0,24621	-4,51949	6,2E-06	0,004758
ENSDARG00000101585	tecra	76,98249	6,34775	1,405135	4,517538	6,26E-06	0,004758
ENSDARG00000010317	gpr183a	18,51935	-1,57612	0,351277	-4,48682	7,23E-06	0,005175
ENSDARG00000067990	myhz1.1	64,67868	2,700507	0,601157	4,492184	7,05E-06	0,005175
ENSDARG00000010619	themis	14,19646	-1,81447	0,40819	-4,44516	8,78E-06	0,005937
ENSDARG00000114894	znf1026	19,7091	-1,38193	0,310862	-4,44548	8,77E-06	0,005937
ENSDARG00000090600	si:ch211-213a13.1	323,8362	-3,22941	0,728271	-4,43435	9,24E-06	0,006074
ENSDARG00000117491	CU855688.1	14,46722	1,922018	0,434193	4,426639	9,57E-06	0,00613
ENSDARG00000092233	vtg1	176,6857	2,944982	0,6664	4,419243	9,9E-06	0,006181
ENSDARG00000028731	stat4	34,94947	-1,58575	0,36035	-4,40058	1,08E-05	0,006568
ENSDARG00000007467	ifit10	18,52404	-4,94187	1,137183	-4,34571	1,39E-05	0,007947
ENSDARG00000069961	il21r.1	63,55553	-1,29313	0,297719	-4,34348	1,4E-05	0,007947
ENSDARG00000032885	si:ch211-226m7.4	33,89089	1,547943	0,356405	4,343211	1,4E-05	0,007947
ENSDARG00000093214	si:ch211-284e13.9	23,50924	-1,66773	0,388949	-4,2878	1,8E-05	0,009981
ENSDARG00000095673	si:dkey-79f11.8	30,39832	-6,4794	1,529671	-4,23581	2,28E-05	0,012115
ENSDARG00000088831	si:dkey-81j8.6	22,07982	-1,99191	0,470394	-4,23455	2,29E-05	0,012115
ENSDARG00000101014	slco1f4	4,985412	5,932084	1,402738	4,228934	2,35E-05	0,012158
ENSDARG00000105266	si:dkey-16p6.1	14,8571	-2,59149	0,615033	-4,21357	2,51E-05	0,012737
ENSDARG00000075346	tmem129	255,4415	0,505023	0,119985	4,209047	2,56E-05	0,012737
ENSDARG00000074283	inpp5d	116,6038	-1,11091	0,264307	-4,2031	2,63E-05	0,012815
ENSDARG00000095026	si:dkey-58f10.14	10,72728	-4,15513	0,994521	-4,17802	2,94E-05	0,013357
ENSDARG00000101728	si:dkeyp-80d11.12	9,188694	-3,03997	0,729765	-4,16568	3,1E-05	0,013357
ENSDARG00000071543	si:dkey-42i9.7	28,76336	-2,9514	0,706858	-4,17538	2,97E-05	0,013357
ENSDARG00000043475	si:ch211-122h15.4	113,3422	-1,67301	0,400194	-4,1805	2,91E-05	0,013357
ENSDARG00000071437	ptprc	343,6064	-1,11075	0,266757	-4,1639	3,13E-05	0,013357
ENSDARG00000062049	arhgap45b	99,35305	-0,92879	0,222678	-4,17098	3,03E-05	0,013357
ENSDARG00000055809	vtg2	19,39724	5,828072	1,392504	4,185318	2,85E-05	0,013357
ENSDARG00000056791	pde6ga	21,88924	-3,64709	0,878431	-4,15182	3,3E-05	0,01384
ENSDARG00000074052	si:ch211-281g13.5	61,93331	-3,65391	0,884609	-4,13054	3,62E-05	0,014438
ENSDARG00000099949	FP236551.1	48,90707	-1,8141	0,439081	-4,13158	3,6E-05	0,014438
ENSDARG00000032631	ltb4r	39,66947	-1,54528	0,373787	-4,13413	3,56E-05	0,014438
ENSDARG00000089463	dhx58	63,537	-3,29948	0,802559	-4,1112	3,94E-05	0,01545
ENSDARG00000041379	si:ch211-245j22.3	53,2759	-5,22288	1,276876	-4,09036	4,31E-05	0,016638
ENSDARG00000111309	AL935126.2	37,11771	7,400761	1,812357	4,083502	4,44E-05	0,016869
ENSDARG00000052288	zmp:0000000634	80,56334	-5,23374	1,284563	-4,07434	4,61E-05	0,017015
ENSDARG00000077090	si:ch211-127b11.1	16,06137	5,489022	1,34639	4,076845	4,57E-05	0,017015
ENSDARG00000004459	unc119.2	45,52201	-4,57894	1,130001	-4,05215	5,07E-05	0,017016
ENSDARG00000054418	ssuh2.2	16,49514	-2,77854	0,685146	-4,0554	5E-05	0,017016
ENSDARG00000102525	lck	17,0159	-1,98235	0,488948	-4,05431	5,03E-05	0,017016
ENSDARG00000019728	bmpr1aa	439,3845	0,627031	0,154914	4,047613	5,17E-05	0,017016
ENSDARG00000058256	draxin	1407,05	0,665238	0,164239	4,050415	5,11E-05	0,017016
ENSDARG00000094668	si:ch211-51a19.5	85,66699	2,73115	0,671709	4,065971	4,78E-05	0,017016

ENSDARG00000098315	cyp1a	20,05002	3,458075	0,854267	4,048005	5,17E-05	0,017016
ENSDARG00000052165	si:ch211-236k19.2	75,20497	5,488341	1,349347	4,067406	4,75E-05	0,017016
ENSDARG00000074656	ctss2.1	46,2542	-1,63224	0,403898	-4,04123	5,32E-05	0,017253
ENSDARG00000015176	ror1	39,3239	-1,00205	0,248429	-4,03355	5,49E-05	0,017592
ENSDARG00000075389	si:ch211-281g13.4	30,43102	-3,7568	0,933473	-4,02454	5,71E-05	0,018042
ENSDARG00000007018	ms4a17a.6	23,82854	-1,55099	0,386569	-4,0122	6,02E-05	0,018768
ENSDARG00000035798	gngt1	231,2607	-4,58871	1,148379	-3,99582	6,45E-05	0,019415
ENSDARG00000004953	mxb	68,51614	-3,91733	0,979392	-3,99976	6,34E-05	0,019415
ENSDARG00000076182	stat1b	200,0531	-3,00857	0,754124	-3,98949	6,62E-05	0,019415
ENSDARG00000038095	socs1a	60,44625	-1,72096	0,431249	-3,99065	6,59E-05	0,019415
ENSDARG00000088366	zgc:77938	193,9505	1,411368	0,35339	3,993799	6,5E-05	0,019415
ENSDARG00000075757	gig2e	11,43792	-2,30678	0,578929	-3,98457	6,76E-05	0,019586
ENSDARG00000074546	si:ch211-213a13.2	207,1771	-4,26256	1,071408	-3,97847	6,94E-05	0,019801
ENSDARG00000104045	tlr22	9,832313	-2,26098	0,569042	-3,97331	7,09E-05	0,019801
ENSDARG00000015752	zap70	32,19613	-1,42027	0,357668	-3,9709	7,16E-05	0,019801
ENSDARG00000037408	tbc1d10c	41,53559	-1,194	0,300553	-3,97268	7,11E-05	0,019801
ENSDARG00000052396	pkz	35,78193	-2,68548	0,677851	-3,96175	7,44E-05	0,020344
ENSDARG00000010252	jak3	44,89497	-1,21599	0,307974	-3,94835	7,87E-05	0,021278
ENSDARG00000040942	pnp6	782,434	0,691913	0,175374	3,945363	7,97E-05	0,021308
ENSDARG00000092259	si:dkey-211g8.5	3,67091	-5,58819	1,422267	-3,92907	8,53E-05	0,022002
ENSDARG00000075072	rpap1	258,9355	-0,62954	0,160114	-3,93184	8,43E-05	0,022002
ENSDARG00000014196	myl1	22,47509	2,590033	0,659487	3,927348	8,59E-05	0,022002
ENSDARG00000045822	tnnt2e	97,31019	2,923894	0,744396	3,927875	8,57E-05	0,022002
ENSDARG00000101071	si:dkeyp-80d11.14	9,692705	-1,69541	0,43224	-3,92239	8,77E-05	0,022226
ENSDARG00000093748	si:ch211-217k17.11	74,89433	-3,07385	0,786411	-3,90871	9,28E-05	0,023042
ENSDARG00000037358	polr3e	639,91	0,740317	0,189372	3,909328	9,26E-05	0,023042
ENSDARG00000105364	si:ch73-223f5.1	249,9613	-2,25547	0,578322	-3,90002	9,62E-05	0,023602
ENSDARG00000055730	trim35-29	26,2314	2,224615	0,570704	3,89802	9,7E-05	0,023602
ENSDARG00000076158	zgc:165583	14,77398	-1,73106	0,444598	-3,89354	9,88E-05	0,023804
ENSDARG00000098189	si:dkey-16p6.1	21,01967	-2,0213	0,520049	-3,88674	0,000102	0,024005
ENSDARG00000075504	si:dkey-40c23.2	39,2451	-1,77002	0,455386	-3,88687	0,000102	0,024005
ENSDARG00000117508	CU459056.2	31,31827	-2,81318	0,726197	-3,87385	0,000107	0,025048
ENSDARG00000104450	CR855996.2	18,79987	2,993049	0,773054	3,871719	0,000108	0,025048
ENSDARG00000092191	CR318588.1	1186,549	-3,8714	1,002492	-3,86178	0,000113	0,025602
ENSDARG00000040582	C18H3orf33	96,04662	0,956905	0,247762	3,862198	0,000112	0,025602
ENSDARG00000058774	CABZ01053221.1	6,751038	-2,13749	0,554449	-3,85516	0,000116	0,02606
ENSDARG00000077130	bcl10	19,27022	-1,44581	0,375445	-3,85093	0,000118	0,026272
ENSDARG00000025428	socs3a	319,8547	-2,28392	0,593862	-3,84587	0,00012	0,026576
ENSDARG00000061177	mov10b.1	67,60348	-2,23373	0,582393	-3,83543	0,000125	0,027056
ENSDARG00000044235	BX005421.1	11,77669	-1,87999	0,490235	-3,83487	0,000126	0,027056
ENSDARG00000022183	gsto1	561,16	0,791405	0,206245	3,837212	0,000124	0,027056
ENSDARG00000070028	tmem41aa	294,3783	-0,52064	0,136132	-3,82454	0,000131	0,027969
ENSDARG00000086391	cald1b	29,47612	1,741375	0,455576	3,822362	0,000132	0,027971
ENSDARG00000013855	slc12a3	25,84152	2,833511	0,741834	3,819602	0,000134	0,028042
ENSDARG00000100968	si:ch211-1a19.3	127,6878	-1,3544	0,355749	-3,80717	0,000141	0,029237
ENSDARG00000097559	cyp8b3	23,46184	-3,1911	0,83928	-3,80219	0,000143	0,02958

ENSDARG00000093753	BX004774.2	193,7659	-3,35418	0,884297	-3,79305	0,000149	0,030432
ENSDARG00000013655	tpd52l2b	1755,256	0,396047	0,104678	3,783498	0,000155	0,031102
ENSDARG00000099860	pkmb	19,15483	1,985092	0,52447	3,784949	0,000154	0,031102
ENSDARG00000032584	thnsl2	58,5869	1,312257	0,347211	3,77942	0,000157	0,031356
ENSDARG00000112454	FO744833.2	250,7418	-1,06081	0,281449	-3,7691	0,000164	0,032415
ENSDARG00000039243	zgc:152791	379,5849	-4,08968	1,08629	-3,76482	0,000167	0,032449
ENSDARG00000107526	smkr1	91,23716	1,22454	0,325166	3,765891	0,000166	0,032449
ENSDARG00000038288	cd151	53,99511	1,22684	0,326066	3,762555	0,000168	0,032484
ENSDARG00000101169	grap2b	69,45649	-1,34499	0,357704	-3,76006	0,00017	0,032551
ENSDARG00000068939	xaf1	80,99448	-2,10235	0,5609	-3,74818	0,000178	0,033866
ENSDARG00000043483	otx5	21,80288	-4,75563	1,270297	-3,74372	0,000181	0,033915
ENSDARG00000078731	si:dkey-85k7.12	46,23873	-3,24038	0,865637	-3,74335	0,000182	0,033915
ENSDARG00000100900	si:ch211-183d5.2	90,99566	-2,64398	0,70701	-3,73967	0,000184	0,033915
ENSDARG00000092653	si:dkey-1h24.6	10,56826	-1,46668	0,391992	-3,7416	0,000183	0,033915
ENSDARG00000002682	tbcela	1466,567	0,437677	0,117083	3,738187	0,000185	0,033915
ENSDARG00000092126	vtg5	23,70013	3,134181	0,842453	3,720305	0,000199	0,036138
ENSDARG00000101272	si:dkey-29j8.1	6,759197	-1,94503	0,523401	-3,71615	0,000202	0,036465
ENSDARG00000055159	cyp27a1.4	191,0922	0,818813	0,220705	3,709983	0,000207	0,036863
ENSDARG00000053323	zgc:112285	19,59111	1,085756	0,292827	3,707837	0,000209	0,036863
ENSDARG00000097580	BX663519.1	55,41507	2,045346	0,55146	3,708969	0,000208	0,036863
ENSDARG00000089185	si:ch73-264i18.2	2,574693	5,23719	1,41348	3,705175	0,000211	0,036985
ENSDARG00000032932	cnksr1	19,13048	-1,15229	0,311167	-3,70313	0,000213	0,037018
ENSDARG00000054610	coro1a	158,7542	-1,13353	0,306657	-3,69639	0,000219	0,037478
ENSDARG00000034063	unm_sa911	124,8442	-1,01276	0,273941	-3,697	0,000218	0,037478
ENSDARG00000090730	cfbl	23,55705	-1,94248	0,527028	-3,68572	0,000228	0,038276
ENSDARG00000089227	si:ch211-91p5.3	148,7863	-1,22865	0,333224	-3,68714	0,000227	0,038276
ENSDARG00000004954	grna	435,3453	-0,97673	0,264828	-3,68817	0,000226	0,038276
ENSDARG00000008592	mtmr8	211,84	-1,80008	0,489257	-3,67922	0,000234	0,038995
ENSDARG00000074501	tnip2	14,95865	-1,8318	0,498515	-3,67452	0,000238	0,039451
ENSDARG00000112831	znf1116	5,616213	-3,68212	1,007437	-3,65494	0,000257	0,040309
ENSDARG00000034095	si:dkey-59l11.10	4,273366	-3,45926	0,947606	-3,65053	0,000262	0,040309
ENSDARG00000113386	LO018432.1	13,70658	-3,40887	0,933373	-3,6522	0,00026	0,040309
ENSDARG00000093254	znf569l	22,27115	-1,74352	0,476823	-3,65653	0,000256	0,040309
ENSDARG00000002165	psme1	196,5018	-1,24669	0,340793	-3,6582	0,000254	0,040309
ENSDARG00000094451	cfp	291,775	-1,13416	0,309322	-3,66658	0,000246	0,040309
ENSDARG00000094854	ms4a17a.9	23,93016	-1,12734	0,308705	-3,65183	0,00026	0,040309
ENSDARG00000071558	fblim1	86,34791	0,791259	0,216127	3,661085	0,000251	0,040309
ENSDARG00000096045	si:ch73-263o4.4	21,07568	1,864121	0,510054	3,654755	0,000257	0,040309
ENSDARG00000087641	cdh26.2	27,49433	2,062629	0,563345	3,661399	0,000251	0,040309
ENSDARG00000045592	tnni2a.1	41,53237	4,136382	1,131927	3,654282	0,000258	0,040309
ENSDARG00000092159	CR788249.1	20,92327	-4,21296	1,157248	-3,6405	0,000272	0,041537
ENSDARG00000039512	ap1m3	51,50422	-1,22567	0,336763	-3,63957	0,000273	0,041537
ENSDARG00000096355	ighv1-4	116,5287	-4,07637	1,120754	-3,63717	0,000276	0,041666
ENSDARG00000008306	rdh5	41,4861	-3,83153	1,056286	-3,62736	0,000286	0,04275
ENSDARG00000100434	znf1091	28,42767	-3,03531	0,83643	-3,62889	0,000285	0,04275
ENSDARG00000052223	rcvrna	24,89004	-4,98773	1,38359	-3,60492	0,000312	0,043175

ENSDARG00000100568	si:ch211-209j12.3	5,64605	-3,59469	0,996871	-3,60598	0,000311	0,043175
ENSDARG00000002696	gnb3b	50,1038	-2,72007	0,754059	-3,60724	0,000309	0,043175
ENSDARG00000004952	rsad2	151,1438	-2,29699	0,636882	-3,60662	0,00031	0,043175
ENSDARG00000098515	si:dkey-16p6.1	54,17549	-1,69489	0,469968	-3,60639	0,00031	0,043175
ENSDARG00000100669	si:dkey-61p9.9	18,42742	-1,47296	0,408158	-3,60879	0,000308	0,043175
ENSDARG00000114991	tmem14cb	32,63878	-1,22506	0,338416	-3,61999	0,000295	0,043175
ENSDARG00000069774	flot2b	1183,238	0,363745	0,100632	3,614625	0,000301	0,043175
ENSDARG00000015482	zgc:113518	197,057	0,514276	0,142076	3,619716	0,000295	0,043175
ENSDARG00000075599	cdc25d	51,14493	0,687367	0,190245	3,613054	0,000303	0,043175
ENSDARG00000094901	abcc6b.2	17,71361	1,093126	0,301822	3,621754	0,000293	0,043175
ENSDARG00000019128	tpm4b	69,61131	1,403176	0,38894	3,607694	0,000309	0,043175
ENSDARG00000095024	si:dkeyp-68b7.10	5,475087	2,323612	0,642833	3,614645	0,000301	0,043175
ENSDARG00000044612	c1qb	41,35639	-1,48744	0,412887	-3,60255	0,000315	0,043325
ENSDARG00000101309	si:ch73-100l22.3	227,2183	0,752427	0,209258	3,595699	0,000324	0,044232
ENSDARG00000101675	zgc:123107	60,63829	-1,22681	0,341577	-3,5916	0,000329	0,044433
ENSDARG00000020610	tnnt2a	13,70478	2,009186	0,559411	3,59161	0,000329	0,044433
ENSDARG00000005713	ethe1	180,6208	0,715788	0,200044	3,578154	0,000346	0,046016
ENSDARG00000098046	FP017161.1	196,3582	0,871499	0,243536	3,578517	0,000346	0,046016
ENSDARG00000098811	LO018021.1	38,82198	0,879947	0,245746	3,580713	0,000343	0,046016
ENSDARG00000054340	sla1a	12,8555	-1,84624	0,517082	-3,5705	0,000356	0,047124
ENSDARG00000078618	inpp5kb	54,3152	-2,24734	0,629697	-3,56892	0,000358	0,047153
ENSDARG00000089930	iqce	451,2363	0,846778	0,237392	3,567004	0,000361	0,047244
ENSDARG00000044199	gnat1	271,0448	-4,22288	1,186217	-3,55995	0,000371	0,048014
ENSDARG00000103551	rnf213b	78,05034	-2,76741	0,777137	-3,56103	0,000369	0,048014
ENSDARG00000078130	CR391986.1	68,27406	0,555449	0,156091	3,558495	0,000373	0,048026
ENSDARG00000091627	si:dkey-271j15.3	18,75689	-2,85533	0,802833	-3,55657	0,000376	0,048046
ENSDARG00000100420	tpcn2	38,46233	-2,2763	0,640198	-3,55562	0,000377	0,048046
ENSDARG00000103720	zgc:162730	428,5616	-1,05731	0,297686	-3,55178	0,000383	0,048499
ENSDARG00000034160	slc4a1ap	852,5459	0,356273	0,100466	3,546204	0,000391	0,049026
ENSDARG00000038941	ppp1r1c	914,9612	0,947675	0,26721	3,546548	0,00039	0,049026
ENSDARG00000090977	ifit12	8,278224	-2,10441	0,593758	-3,54422	0,000394	0,049144
ENSDARG00000086848	atad3	94,54343	-0,72335	0,204181	-3,5427	0,000396	0,049174
Флуоксетин против контрольной группы							
ENSDARG00000093998	si:ch73-7i4.2	164,8442	5,23191	0,601678	8,695536	3,45E-18	7,63E-14
ENSDARG00000075757	gig2e	11,43792	-3,85335	0,635052	-6,06777	1,3E-09	1,43E-05
ENSDARG00000102639	si:dkey-29d5.2	41,03763	5,294999	0,903836	5,858365	4,67E-09	3,44E-05
ENSDARG00000069839	CU571382.1	29,63909	-3,57225	0,656588	-5,44063	5,31E-08	0,000276
ENSDARG00000078389	ifi46	158,1358	-2,7274	0,50396	-5,41194	6,23E-08	0,000276
ENSDARG00000087102	si:ch1073-164k15.3	54,19928	-5,37584	1,034098	-5,19858	2,01E-07	0,00074
ENSDARG00000026979	krt1-c5	299,3362	7,266663	1,457883	4,984394	6,22E-07	0,001963
ENSDARG00000090600	si:ch211-213a13.1	323,8362	-3,46337	0,701894	-4,93433	8,04E-07	0,002101
ENSDARG00000029720	si:dkeyp-9d4.2	118,4261	-2,8883	0,586773	-4,92235	8,55E-07	0,002101
ENSDARG00000092919	zp3c	4,913544	-5,64865	1,157449	-4,88026	1,06E-06	0,002342
ENSDARG00000088251	lgals17	195,6001	-4,28668	0,888117	-4,8267	1,39E-06	0,00279
ENSDARG00000074052	si:ch211-281g13.5	61,93331	-3,9522	0,853709	-4,62945	3,67E-06	0,00548
ENSDARG00000094719	CR318588.3	1227,035	-3,8692	0,838033	-4,617	3,89E-06	0,00548

ENSDARG00000092653	si:dkey-1h24.6	10,56826	-1,78926	0,384799	-4,64985	3,32E-06	0,00548
ENSDARG00000074466	gdpd3a	29,9061	1,20471	0,261146	4,613172	3,97E-06	0,00548
ENSDARG00000111309	AL935126.2	37,11771	8,144139	1,759393	4,628947	3,68E-06	0,00548
ENSDARG00000007018	ms4a17a.6	23,82854	-1,67663	0,371835	-4,50908	6,51E-06	0,00805
ENSDARG00000010252	jak3	44,89497	-1,33266	0,296398	-4,49619	6,92E-06	0,00805
ENSDARG00000052165	si:ch211-236k19.2	75,20497	5,87199	1,304001	4,503057	6,7E-06	0,00805
ENSDARG00000019601	col12a1b	137,9121	-3,57917	0,814411	-4,3948	1,11E-05	0,011672
ENSDARG00000076158	zgc:165583	14,77398	-1,88427	0,428078	-4,40171	1,07E-05	0,011672
ENSDARG00000095309	si:dkey-79f11.9	36,29543	-4,0224	0,920755	-4,36859	1,25E-05	0,01202
ENSDARG00000087641	cdh26.2	27,49433	2,372439	0,542722	4,371371	1,23E-05	0,01202
ENSDARG00000008592	mtmr8	211,84	-2,03965	0,471631	-4,32466	1,53E-05	0,012831
ENSDARG00000012881	slc4a1a	147,5154	-1,46805	0,339068	-4,32966	1,49E-05	0,012831
ENSDARG00000078193	si:ch211-67e16.3	11,84568	-1,37999	0,317853	-4,34161	1,41E-05	0,012831
ENSDARG00000094554	si:ch73-7i4.1	37,6995	3,148321	0,728938	4,319054	1,57E-05	0,012831
ENSDARG00000095026	si:dkey-58f10.14	10,72728	-4,04741	0,938916	-4,31072	1,63E-05	0,012848
ENSDARG00000024032	coch	283,3135	-3,06525	0,713951	-4,29337	1,76E-05	0,012969
ENSDARG00000079402	tapbp.1	144,5193	-1,1655	0,271111	-4,299	1,72E-05	0,012969
ENSDARG00000086374	isg15	261,0382	-3,21871	0,762464	-4,22146	2,43E-05	0,016892
ENSDARG00000074656	ctss2.1	46,2542	-1,63579	0,387645	-4,21982	2,45E-05	0,016892
ENSDARG00000090267	CU062628.1	16,30255	2,569695	0,610233	4,211005	2,54E-05	0,017032
ENSDARG00000034473	ttyh3a	1828,15	-0,34355	0,082096	-4,18477	2,85E-05	0,018561
ENSDARG00000105364	si:ch73-223f5.1	249,9613	-2,32072	0,557109	-4,16566	3,1E-05	0,01961
ENSDARG00000022183	gsto1	561,16	0,825369	0,198708	4,153682	3,27E-05	0,020092
ENSDARG00000040282	zgc:92590	58,28274	3,142379	0,764166	4,112165	3,92E-05	0,02342
ENSDARG00000102835	CABZ01021435.1	26,96331	-1,43292	0,353846	-4,04957	5,13E-05	0,029853
ENSDARG00000039243	zgc:152791	379,5849	-4,19111	1,046639	-4,00435	6,22E-05	0,034371
ENSDARG00000076586	csf2rb	50,70728	-1,28586	0,320894	-4,00713	6,15E-05	0,034371
ENSDARG00000089227	si:ch211-91p5.3	148,7863	-1,27266	0,320772	-3,96749	7,26E-05	0,039165
ENSDARG00000010729	CABZ01073795.1	515,0924	-3,24934	0,832737	-3,902	9,54E-05	0,04894
ENSDARG00000076182	stat1b	200,0531	-2,82559	0,725852	-3,89279	9,91E-05	0,04894
ENSDARG00000070132	aste1a	46,78711	-2,44764	0,63025	-3,8836	0,000103	0,04894
ENSDARG00000010619	themis	14,19646	-1,45562	0,375914	-3,87223	0,000108	0,04894
ENSDARG00000040942	pnp6	782,434	0,657659	0,169004	3,891394	9,97E-05	0,04894
ENSDARG00000092062	BX511123.2	74,96263	0,881983	0,227854	3,87082	0,000108	0,04894
ENSDARG00000056248	si:dkey-183i3.5	63,86707	2,962784	0,764435	3,875781	0,000106	0,04894
ENSDARG00000101585	tecra	76,98249	5,307561	1,359124	3,905133	9,42E-05	0,04894
Флуоксетин против ХНС							
ENSDARG00000100302	si:dkey-237g15.2	108,2872	2,90793	0,581199	5,003329	5,63E-07	0,013086
ENSDARG00000100434	znf1091	28,42767	3,918893	0,807863	4,850939	1,23E-06	0,014269
ENSDARG00000094386	adgrg4b	49,28134	-7,56984	1,691682	-4,47474	7,65E-06	0,028179
ENSDARG00000102558	pde6ha	146,3818	2,761691	0,621272	4,445218	8,78E-06	0,028179
ENSDARG00000002696	gnb3b	50,1038	3,23506	0,727714	4,445509	8,77E-06	0,028179
ENSDARG00000056511	arr3a	96,37119	3,967655	0,888263	4,466758	7,94E-06	0,028179
ENSDARG00000035798	gngt1	231,2607	4,899159	1,107504	4,423605	9,71E-06	0,028179
ENSDARG00000104919	si:ch211-153b23.3	15,75144	6,587543	1,444016	4,561959	5,07E-06	0,028179
ENSDARG00000052057	pcolceb	37,76886	-3,10023	0,725539	-4,27301	1,93E-05	0,043741

ENSDARG00000059163	rbp3	153,2547	3,47854	0,809138	4,299067	1,72E-05	0,043741
ENSDARG00000012610	saga	87,58627	5,196321	1,220649	4,257013	2,07E-05	0,043741
ENSDARG00000099860	pkmb	19,15483	-2,12218	0,509276	-4,16705	3,09E-05	0,049546
ENSDARG00000057648	dnttip2	254,251	0,536119	0,129562	4,137921	3,5E-05	0,049546
ENSDARG00000095801	BX649485.2	68,99263	2,90827	0,702904	4,137506	3,51E-05	0,049546
ENSDARG00000008306	rdh5	41,4861	4,202817	1,020871	4,116895	3,84E-05	0,049546
ENSDARG00000041379	si:ch211-245j22.3	53,2759	5,096952	1,235552	4,125244	3,7E-05	0,049546
ENSDARG00000043483	otx5	21,80288	5,151354	1,233783	4,175251	2,98E-05	0,049546
ENSDARG00000105096	si:ch1073-67j19.1	13,8963	5,255277	1,261485	4,165945	3,1E-05	0,049546

Таблица А.7. Статистические данные по наборам генов, обогащённых в анализах. Анализ путей KEGG и GO был выполнен на нормализованных и трансформированных по логарифму двойки подсчетов с использованием пакета общепримемого анализа обогащения наборов генов (general applicable gene set enrichment for pathway analysis; GAGE), с использованием двустороннего т-теста для сравнения дифференциальной экспрессии наборов генов *[192]*. Коэффициент ложного обнаружения был установлен в 0,05 для KEGG и 0,01 для GO. Снижение коэффициента для GO связано с большим числом представленных наборов и большого числа наборов <0,05, что затрудняет соблюдение изначального упора анализа на поиск наиболее изменивших свою экспрессию наборов. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Набор	**p.geomean**	**stat.mean**	**p**	**q**	**set.size**
Стресс против контрольной группы, наборы, повысившие экспрессию					
GO					
GO:0043292 contractile fiber	5,7E-11	6,756234	5,7E-11	9,17E-08	134
GO:0030016 myofibril	6,37E-11	6,73993	6,37E-11	9,17E-08	133
GO:0044449 contractile fiber part	7,13E-11	6,723342	7,13E-11	9,17E-08	132
GO:0030017 sarcomere	7,97E-11	6,707025	7,97E-11	9,17E-08	131
GO:0005865 striated muscle thin filament	3,3E-10	6,94235	3,3E-10	2,53E-07	54
GO:0036379 myofilament	3,3E-10	6,94235	3,3E-10	2,53E-07	54
GO:0003735 structural constituent of ribosome	6,6E-10	6,388184	6,6E-10	4,34E-07	152
GO:0099080 supramolecular complex	1,24E-09	6,0308	1,24E-09	6,32E-07	435
GO:0099081 supramolecular polymer	1,24E-09	6,0308	1,24E-09	6,32E-07	435
GO:0099512 supramolecular fiber	1,83E-09	5,963975	1,83E-09	8,44E-07	434
GO:0005861 troponin complex	8,57E-09	6,964295	8,57E-09	3,51E-06	25
GO:0044391 ribosomal subunit	9,15E-09	5,901812	9,15E-09	3,51E-06	142
GO:0005840 ribosome	2,03E-08	5,663013	2,03E-08	7,18E-06	179
GO:0003009 skeletal muscle contraction	2,56E-08	6,543129	2,56E-08	8,42E-06	28
GO:0050879 multicellular organismal movement	4,14E-08	6,29183	4,14E-08	1,19E-05	31
GO:0050881 musculoskeletal movement	4,14E-08	6,29183	4,14E-08	1,19E-05	31
GO:0006397 mRNA processing	9,51E-08	5,287186	9,51E-08	2,58E-05	292
GO:0009199 ribonucleoside triphosphate metabolic process	1,12E-07	5,307604	1,12E-07	2,87E-05	143
GO:0009205 purine ribonucleoside triphosphate metabolic process	1,39E-07	5,273186	1,39E-07	3,37E-05	134
GO:0009144 purine nucleoside triphosphate metabolic process	1,58E-07	5,245025	1,58E-07	3,64E-05	136
GO:0006936 muscle contraction	1,9E-07	5,267732	1,9E-07	4,17E-05	117
GO:0098798 mitochondrial protein complex	3,07E-07	5,097474	3,07E-07	6,42E-05	198

GO:0003012 muscle system process	3,95E-07	5,101369	3,95E-07	7,9E-05	124
GO:0009141 nucleoside triphosphate metabolic process	4,26E-07	5,027818	4,26E-07	8,18E-05	152
GO:0044455 mitochondrial membrane part	6,54E-07	4,952215	6,54E-07	0,00012	163
GO:0044445 cytosolic part	1,05E-06	4,843757	1,05E-06	0,000186	159
GO:0008380 RNA splicing	2,22E-06	4,653209	2,22E-06	0,000379	237
GO:0046034 ATP metabolic process	3,84E-06	4,57801	3,84E-06	0,000631	117
GO:0022626 cytosolic ribosome	4,99E-06	4,59203	4,99E-06	0,000792	87
GO:0070469 respiratory chain	7,28E-06	4,524333	7,28E-06	0,001117	75
GO:0030018 Z disc	8,43E-06	4,457722	8,43E-06	0,001252	74
GO:0006941 striated muscle contraction	8,99E-06	4,583173	8,99E-06	0,001294	50
GO:0006412 translation	9,52E-06	4,3053	9,52E-06	0,001328	412
GO:0098800 inner mitochondrial membrane protein complex	1,04E-05	4,375027	1,04E-05	0,001408	109
GO:0031674 I band	1,09E-05	4,381794	1,09E-05	0,001431	83
GO:0044427 chromosomal part	1,14E-05	4,259254	1,14E-05	0,001462	461
GO:0016071 mRNA metabolic process	1,19E-05	4,253874	1,19E-05	0,001484	391
GO:0043043 peptide biosynthetic process	1,4E-05	4,216929	1,4E-05	0,001692	417
GO:0015934 large ribosomal subunit	1,43E-05	4,383207	1,43E-05	0,001692	83
GO:0009123 nucleoside monophosphate metabolic process	1,58E-05	4,221616	1,58E-05	0,001822	162
GO:0000003 reproduction	1,65E-05	4,189676	1,65E-05	0,001855	255
GO:0006518 peptide metabolic process	1,71E-05	4,164812	1,71E-05	0,001873	491
GO:0005179 hormone activity	2E-05	4,189538	2E-05	0,002146	115
GO:0017144 drug metabolic process	2,38E-05	4,091858	2,38E-05	0,002436	365
GO:0009161 ribonucleoside monophosphate metabolic process	2,38E-05	4,124877	2,38E-05	0,002436	158
GO:0006091 generation of precursor metabolites and energy	2,44E-05	4,113422	2,44E-05	0,002439	176
GO:0098803 respiratory chain complex	2,62E-05	4,224879	2,62E-05	0,002517	67
GO:0000375 RNA splicing, via transesterification reactions	2,73E-05	4,09329	2,73E-05	0,002517	187
GO:0000377 RNA splicing, via transesterification reactions	2,73E-05	4,09329	2,73E-05	0,002517	187
GO:0000398 mRNA splicing, via spliceosome	2,73E-05	4,09329	2,73E-05	0,002517	187
GO:0005746 mitochondrial respiratory chain	2,8E-05	4,204058	2,8E-05	0,002523	66
GO:0022414 reproductive process	2,85E-05	4,060517	2,85E-05	0,002523	251
GO:0009126 purine nucleoside monophosphate metabolic process	3,03E-05	4,070776	3,03E-05	0,002585	145
GO:0009167 purine ribonucleoside monophosphate metabolic process	3,03E-05	4,070776	3,03E-05	0,002585	145
GO:0019866 organelle inner membrane	3,54E-05	4,009657	3,54E-05	0,002968	259
GO:0006281 DNA repair	3,89E-05	3,984296	3,89E-05	0,003201	286
GO:0009201 ribonucleoside triphosphate biosynthetic process	4,36E-05	4,031523	4,36E-05	0,003526	79
GO:0006259 DNA metabolic process	4,57E-05	3,931776	4,57E-05	0,003627	460
GO:0005743 mitochondrial inner membrane	4,76E-05	3,941233	4,76E-05	0,003712	232
GO:0045214 sarcomere organization	5,02E-05	4,062879	5,02E-05	0,003849	57
GO:0044429 mitochondrial part	5,14E-05	3,901409	5,14E-05	0,003879	475
GO:0009145 purine nucleoside triphosphate biosynthetic process	5,54E-05	3,984612	5,54E-05	0,004049	70
GO:0009206 purine ribonucleoside triphosphate biosynthetic process	5,54E-05	3,984612	5,54E-05	0,004049	70
GO:0022625 cytosolic large ribosomal subunit	5,81E-05	4,160117	5,81E-05	0,004184	47
GO:0044451 nucleoplasm part	6,86E-05	3,834049	6,86E-05	0,004862	413
GO:0051321 meiotic cell cycle	7,82E-05	3,862158	7,82E-05	0,005438	101
GO:0031033 myosin filament organization	8,15E-05	4,084641	8,15E-05	0,005438	28
GO:0031034 myosin filament assembly	8,15E-05	4,084641	8,15E-05	0,005438	28

GO:0071688 striated muscle myosin thick filament assembly	8,15E-05	4,084641	8,15E-05	0,005438	28
GO:0015935 small ribosomal subunit	8,86E-05	3,954587	8,86E-05	0,00577	59
GO:0009259 ribonucleotide metabolic process	8,9E-05	3,775155	8,9E-05	0,00577	267
GO:0019693 ribose phosphate metabolic process	9,03E-05	3,770041	9,03E-05	0,005778	279
GO:0015078 proton transmembrane transporter activity	9,44E-05	3,796702	9,44E-05	0,005957	113
GO:0009142 nucleoside triphosphate biosynthetic process	0,000114	3,770568	0,000114	0,007079	85
GO:0031672 A band	0,000116	3,917425	0,000116	0,0071	35
GO:0051726 regulation of cell cycle	0,000119	3,692054	0,000119	0,007231	412
GO:0009150 purine ribonucleotide metabolic process	0,000129	3,680693	0,000129	0,007709	252
GO:0030240 skeletal muscle thin filament assembly	0,000156	3,884542	0,000156	0,009192	28
GO:0030241 skeletal muscle myosin thick filament assembly	0,000158	3,889877	0,000158	0,009192	27
KEGG					
dre03010 Ribosome	7,59E-10	6,444811	7,59E-10	1,15E-07	127
dre00190 Oxidative phosphorylation	3,70E-08	5,574204	3,70E-08	2,79E-06	134
dre03040 Spliceosome	0,000233	3,558233	0,000233	0,011711	131
dre01200 Carbon metabolism	0,000357	3,425732	0,000357	0,013459	131
dre00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0,001543	3,007828	0,001543	0,046611	76
dre00983 Drug metabolism - other enzymes	0,001959	2,941778	0,001959	0,049312	61
Стресс против контрольной группы, наборы, понизившие экспрессию					
GO					
GO:0004713 protein tyrosine kinase activity	2,73E-07	-5,14243	2,73E-07	0,001048	127
GO:0043235 receptor complex	4,55E-07	-4,96885	4,55E-07	0,001048	269
GO:0043207 response to external biotic stimulus	5,94E-06	-4,42465	5,94E-06	0,006837	256
GO:0051707 response to other organism	5,94E-06	-4,42465	5,94E-06	0,006837	256
GO:0009607 response to biotic stimulus	8,13E-06	-4,35321	8,13E-06	0,007487	259
GO:0009615 response to virus	1,29E-05	-4,36962	1,29E-05	0,009014	67
GO:0007169 transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway	1,37E-05	-4,22875	1,37E-05	0,009014	284
GO:0019199 transmembrane receptor protein kinase activity	1,73E-05	-4,24773	1,73E-05	0,009953	91
KEGG					
dre04010 MAPK signaling pathway	4,24E-07	-4,96907	4,24E-07	6,4E-05	349
dre04621 NOD-like receptor signaling pathway	0,000148	-3,66037	0,000148	0,011205	154
dre04620 Toll-like receptor signaling pathway	0,00026	-3,53213	0,00026	0,013066	95
dre04744 Phototransduction	0,000359	-3,56559	0,000359	0,013567	36
Флуоксетин против контрольной группы, наборы, повысившие экспрессию					
GO					
GO:0030017 sarcomere	1,17E-07	5,333424	1,17E-07	0,000226	131
GO:0044449 contractile fiber part	1,46E-07	5,285806	1,46E-07	0,000226	132
GO:0030016 myofibril	1,62E-07	5,263313	1,62E-07	0,000226	133
GO:0043292 contractile fiber	2,02E-07	5,216665	2,02E-07	0,000226	134
GO:0009144 purine nucleoside triphosphate metabolic process	3,38E-07	5,092253	3,38E-07	0,000226	136
GO:0009199 ribonucleoside triphosphate metabolic process	3,69E-07	5,068422	3,69E-07	0,000226	143
GO:0009205 purine ribonucleoside triphosphate metabolic process	3,98E-07	5,059764	3,98E-07	0,000226	134
GO:0006163 purine nucleotide metabolic process	4,31E-07	4,981415	4,31E-07	0,000226	262
GO:0019693 ribose phosphate metabolic process	4,87E-07	4,953079	4,87E-07	0,000226	279
GO:0009259 ribonucleotide metabolic process	6,79E-07	4,887383	6,79E-07	0,000226	267
GO:0006936 muscle contraction	6,9E-07	4,97093	6,9E-07	0,000226	117

GO:0009126 purine nucleoside monophosphate metabolic process	7,34E-07	4,919859	7,34E-07	0,000226	145
GO:0009167 purine ribonucleoside monophosphate metabolic process	7,34E-07	4,919859	7,34E-07	0,000226	145
GO:0006091 generation of precursor metabolites and energy	7,39E-07	4,901995	7,39E-07	0,000226	176
GO:0009150 purine ribonucleotide metabolic process	8,2E-07	4,851689	8,2E-07	0,000226	252
GO:0005865 striated muscle thin filament	8,7E-07	5,11086	8,7E-07	0,000226	54
GO:0036379 myofilament	8,7E-07	5,11086	8,7E-07	0,000226	54
GO:0009123 nucleoside monophosphate metabolic process	8,83E-07	4,870419	8,83E-07	0,000226	162
GO:0034660 ncRNA metabolic process	1,16E-06	4,777442	1,16E-06	0,000276	332
GO:0003012 muscle system process	1,2E-06	4,8407	1,2E-06	0,000276	124
GO:0009161 ribonucleoside monophosphate metabolic process	1,26E-06	4,796776	1,26E-06	0,000276	158
GO:0072521 purine-containing compound metabolic process	1,32E-06	4,74342	1,32E-06	0,000276	298
GO:0003735 structural constituent of ribosome	2,25E-06	4,727254	2,25E-06	0,000451	152
GO:0009117 nucleotide metabolic process	2,67E-06	4,586984	2,67E-06	0,000513	346
GO:0046034 ATP metabolic process	3,03E-06	4,633455	3,03E-06	0,000558	117
GO:0006753 nucleoside phosphate metabolic process	3,6E-06	4,521899	3,6E-06	0,000638	350
GO:0022613 ribonucleoprotein complex biogenesis	3,79E-06	4,530983	3,79E-06	0,000647	308
GO:0044391 ribosomal subunit	4,1E-06	4,599033	4,1E-06	0,000675	142
GO:0098798 mitochondrial protein complex	4,92E-06	4,503932	4,92E-06	0,000781	198
GO:0009141 nucleoside triphosphate metabolic process	6,48E-06	4,434776	6,48E-06	0,000994	152
GO:0044455 mitochondrial membrane part	7,59E-06	4,415163	7,59E-06	0,001128	163
GO:0003009 skeletal muscle contraction	9,42E-06	4,776851	9,42E-06	0,00132	28
GO:0006412 translation	9,46E-06	4,309842	9,46E-06	0,00132	412
GO:0050879 multicellular organismal movement	1,18E-05	4,652965	1,18E-05	0,001554	31
GO:0050881 musculoskeletal movement	1,18E-05	4,652965	1,18E-05	0,001554	31
GO:0055086 nucleobase-containing small molecule metabolic process	1,3E-05	4,230349	1,3E-05	0,00166	415
GO:0034470 ncRNA processing	1,37E-05	4,245744	1,37E-05	0,001665	254
GO:0006941 striated muscle contraction	1,37E-05	4,431813	1,37E-05	0,001665	50
GO:0007601 visual perception	1,56E-05	4,238356	1,56E-05	0,001837	147
GO:0005840 ribosome	1,63E-05	4,228984	1,63E-05	0,001875	179
GO:0043043 peptide biosynthetic process	1,98E-05	4,138762	1,98E-05	0,002219	417
GO:0015980 energy derivation by oxidation of organic compounds	2,13E-05	4,185421	2,13E-05	0,00233	123
GO:0050953 sensory perception of light stimulus	2,46E-05	4,123614	2,46E-05	0,002636	154
GO:0006518 peptide metabolic process	2,53E-05	4,073881	2,53E-05	0,002644	491
GO:0070469 respiratory chain	3,16E-05	4,165479	3,16E-05	0,00323	75
GO:0009127 purine nucleoside monophosphate biosynthetic process	3,59E-05	4,07192	3,59E-05	0,003516	85
GO:0009168 purine ribonucleoside monophosphate biosynthetic process	3,59E-05	4,07192	3,59E-05	0,003516	85
GO:0043604 amide biosynthetic process	3,87E-05	3,973568	3,87E-05	0,003712	480
GO:0009124 nucleoside monophosphate biosynthetic process	4,47E-05	3,999043	4,47E-05	0,00415	101
GO:0017144 drug metabolic process	4,51E-05	3,938214	4,51E-05	0,00415	365
GO:0042254 ribosome biogenesis	5,55E-05	3,917606	5,55E-05	0,005014	205
GO:0030018 Z disc	5,89E-05	3,97508	5,89E-05	0,005215	74
GO:0009156 ribonucleoside monophosphate biosynthetic process	6,16E-05	3,919026	6,16E-05	0,005352	98
GO:0006164 purine nucleotide biosynthetic process	6,51E-05	3,874823	6,51E-05	0,005555	156
GO:0098800 inner mitochondrial membrane protein complex	6,72E-05	3,911589	6,72E-05	0,005629	109
GO:0009260 ribonucleotide biosynthetic process	7,46E-05	3,837522	7,46E-05	0,006137	164
GO:0009152 purine ribonucleotide biosynthetic process	7,62E-05	3,836548	7,62E-05	0,006157	150

GO:0046390 ribose phosphate biosynthetic process	7,93E-05	3,821061	7,93E-05	0,006297	167
GO:0009201 ribonucleoside triphosphate biosynthetic process	8,25E-05	3,861156	8,25E-05	0,006438	79
GO:0009145 purine nucleoside triphosphate biosynthetic process	9,11E-05	3,847039	9,11E-05	0,006879	70
GO:0009206 purine ribonucleoside triphosphate biosynthetic process	9,11E-05	3,847039	9,11E-05	0,006879	70
GO:0098803 respiratory chain complex	0,000107	3,854088	0,000107	0,007957	67
GO:0019752 carboxylic acid metabolic process	0,00011	3,708618	0,00011	0,008036	500
GO:0045333 cellular respiration	0,000127	3,752971	0,000127	0,009139	88
GO:0005861 troponin complex	0,000129	3,998797	0,000129	0,009139	25
GO:0072522 purine-containing compound biosynthetic process	0,000135	3,682199	0,000135	0,009406	168
GO:0005746 mitochondrial respiratory chain	0,000138	3,779315	0,000138	0,009497	66
KEGG					
dre00190 Oxidative phosphorylation	2,52E-06	4,679714	2,52E-06	0,000198	134
dre03010 Ribosome	2,62E-06	4,725296	2,62E-06	0,000198	127
dre04744 Phototransduction	7,92E-05	4,016019	7,92E-05	0,003691	36
dre01200 Carbon metabolism	9,78E-05	3,779534	9,78E-05	0,003691	131
dre00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0,000833	3,202248	0,000833	0,025153	76
dre03040 Spliceosome	0,001156	3,088301	0,001156	0,029099	131
Флуоксетин против контрольной группы, наборы, понизившие экспрессию					
GO					
GO:0006955 immune response	7,61E-07	-4,84991	7,61E-07	0,003505	423
Флуоксетин против стресса, наборы, повысившие экспрессию					
GO					
GO:0007601 visual perception	7,36E-08	5,440696	7,36E-08	0,000271	147
GO:0050953 sensory perception of light stimulus	1,18E-07	5,335551	1,18E-07	0,000271	154
GO:0005261 cation channel activity	4,77E-06	4,464657	4,77E-06	0,005886	313
GO:0001653 peptide receptor activity	5,11E-06	4,483654	5,11E-06	0,005886	162
GO:0050877 nervous system process	6,56E-06	4,388221	6,56E-06	0,005946	419
GO:0005216 ion channel activity	7,75E-06	4,347982	7,75E-06	0,005946	408
KEGG					
dre04010 MAPK signaling pathway	5,6E-08	5,362301	5,6E-08	8,45E-06	349
dre04744 Phototransduction	1,29E-05	4,710578	1,29E-05	0,000971	36
Флуоксетин против стресса, наборы, понизившие экспрессию					
GO					
GO:0099080 supramolecular complex	9,16E-07	-4,80511	9,16E-07	0,001996	435
GO:0099081 supramolecular polymer	9,16E-07	-4,80511	9,16E-07	0,001996	435
GO:0099512 supramolecular fiber	1,3E-06	-4,73273	1,3E-06	0,001996	434
GO:0044427 chromosomal part	1,76E-06	-4,66885	1,76E-06	0,002025	461
GO:0005865 striated muscle thin filament	3,46E-06	-4,79302	3,46E-06	0,002657	54
GO:0036379 myofilament	3,46E-06	-4,79302	3,46E-06	0,002657	54
GO:0005861 troponin complex	4,07E-06	-5,14199	4,07E-06	0,002676	25
GO:0043292 contractile fiber	8,54E-06	-4,39165	8,54E-06	0,004915	134
GO:0030016 myofibril	1,07E-05	-4,33912	1,07E-05	0,005311	133
GO:0007059 chromosome segregation	1,18E-05	-4,30405	1,18E-05	0,005311	151
GO:0044449 contractile fiber part	1,27E-05	-4,29935	1,27E-05	0,005311	132
GO:0003735 structural constituent of ribosome	1,57E-05	-4,26674	1,57E-05	0,005614	152
GO:0030017 sarcomere	1,58E-05	-4,24659	1,58E-05	0,005614	131

KEGG					
dre03010 Ribosome	1,37E-05	-4,32619	1,37E-05	0,002074	127

Таблица А.8. Статистические данные для количественного ПЦР анализа в реальном времени для последней недели ХНС 4 выбранных генов, которые показали статистические отличия в анализе дифференциальной экспрессии методом РНК-секвенирования *[192]*. Данные проанализированы методом Пфаффла. Пост-хок тест Данна для попарных сравнений статистически-значимых по КВ-тесту данных (см. также Рис. 12). К – контроль, Х – ХНС, Ф -Флуоксетин

Группа	**Среднее±стандартная ошибка**	**КВ-тест**	**Р**	**Тест Данна**	
saga					
Контроль	1,461±0,4057	**8,302**	**0,0157**	К и Х	0,1344
ХНС	0,6749±0,1122			К и Ф	>0,9999
Флуоксетин	1,901±0,47			**Х и Ф**	**0,0156**
isg15					
Контроль	2,384±0,7881	**21,6**	**<0,0001**	**К и Х**	**<0,0001**
ХНС	0,0229±0,007507			**К и Ф**	**0,0277**
Флуоксетин	0,1818±0,06124			Х и Ф	0,1264
otx5					
Контроль	3,013±1,067	**12,71**	**0,0017**	**К и Х**	**0,0384**
ХНС	0,5811±0,2882			К и Ф	>0,9999
Флуоксетин	3,904±1,102			**Х и Ф**	**0,0017**
tpm4					
Контроль	1,09±0,1964	**7,804**	**0,0202**	**К и Х**	**0,0183**
ХНС	2,325±0,4452			К и Ф	>0,9999
Флуоксетин	1,37±0,1431			Х и Ф	0,2023

Таблица А.9. Протокол, использованный для моделирования Хронического Непредсказуемого Стресса у крыс (см. также Таблицу А.10, для описания стрессорных воздействий) [193].

День	**Процедуры**
1	Сильный запах + шум 30 мин + яркий свет (150 люкс) 24 ч
2	Мигающий свет 4 ч + скучивание 6 ч + депривация воды 12 ч
3	Социальная изоляция 6 ч + наклон клетки 24 ч
4	Прерывистый свет + плавание 20 мин + депривация пищей
5	Тряска 20 мин + шум 4 ч + инверсия дня и ночи
6	Стресс новизны + предъявление хищника 24 ч + темнота 24 ч
7	Стробоскопическое освещение (150 люкс) 6 ч+ новые объекты + Сильный запах
8	Прерывистый свет + наклон клетки 24 ч + инверсия дня и ночи
9	Скучивание 8 ч + Тряска 30 мин
10	Депривация воды и пищи (с пустыми бутылками) 12 ч + Освещение 24 ч
11	Мигающий свет 8 ч + шум 2 ч + депривация сна
12	Плавание 30 мин + Тряска 10 мин + предъявление хищника 24 ч
13	Новые объекты 24 ч + инверсия дня и ночи
14	Сильный запах + шум 4 ч + Прерывистый свет
15	Социальная изоляция 10 ч + наклон клетки 24 ч

16	Стресс новизны + Предъявление хищника 24 ч + Освещение 24 ч
17	Шум 6 ч + Мигающий свет 4 ч + депривация пищей 24 ч
18	Плавание 30 мин + депривация воды 12 ч + инверсия дня и ночи
19	Скучивание 8 ч + Сильный запах + Освещение 24 ч
20	Мигающий свет 10 ч + наклон клетки 24 ч + Предъявление хищника 24 ч
21	Стробоскопическое освещение 8 ч + новые объекты 24 ч
22	Сильный запах + Прерывистый свет + депривация сна 24 ч
23	Шум 8 ч + депривация воды и еды + темнота 24 ч
24	Мигающий свет 8 ч + новые объекты и наклон клетки 24 ч
25	Плавание 30 мин + Стробоскопическое освещение 6 ч + предъявление хищника 24 ч
26	Скучивание 6 ч + депривация пищей 10 ч + темнота 24 ч
27	Тряска 40 мин+ Мигающий свет 8 ч
28	Социальная изоляция 8 ч с шумом 6 ч + инверсия дня и ночи
29	Стресс новизны + Стробоскопическое освещение с новыми объектами 8 ч + предъявление хищника 24 ч
30	Скучивание 8 ч + депривация воды (с пустыми бутылками) 12 ч + наклон клетки 24 ч
31	Тряска 35 мин + темнота 24 ч с мигающим светом (4 ч)
32	Шум 6 ч +Прерывистый свет + депривация сна
33	Социальная изоляция 8 ч + Освещение 24 ч + депривация пищей 24 ч
34	Плавание 25 мин + Прерывистый свет + наклон клетки 24 ч
35	Мигающий свет 10 ч + новые объекты 24 ч + шум 2 ч
36	Тряска 30 мин + Предъявление хищника 24 ч + Освещение 24 ч
37	Шум 4 ч + депривация пищей + инверсия дня и ночи
38	Скучивание 6 ч + Прерывистый свет
39	Тряска 40 мин + новые объекты + Стробоскопическое освещение 6 ч
40	Плавание 20 мин + Предъявление хищника 24 ч + депривация воды 24 ч
41	Социальная изоляция 10 ч + темнота 24 ч + депривация пищей 24 ч
42	Шум 6 ч + Мигающий свет 8 ч + наклон клетки 24 ч
43	Новые объекты 24 ч + Сильный запах + Освещение 24 ч
44	Плавание 5 мин + Стробоскопическое освещение 8 ч + Предъявление хищника 24 ч
45	Скучивание 10 ч + шум 12 ч + депривация пищей 24 ч
46	Стресс новизны + Тряска 20 мин + темнота 24 ч
47	Шум 4 ч + Прерывистый свет + Предъявление хищника 24 ч
48	Депривация воды 10 ч + наклон клетки 24 ч + инверсия дня и ночи
49	Социальная изоляция 8 ч + шум 2 ч + Стробоскопическое освещение 2 ч
50	Тряска 30 мин + Предъявление хищника 24 ч + темнота 24 ч
51	Сильный запах + Прерывистый свет + Стресс новизны
52	Шум 6 ч + скучивание 12 ч + депривация сна
53	Плавание 30 мин + Мигающий свет 4 ч + Предъявление хищника 24 ч
54	Социальная изоляция 6 ч + депривация пищей 24 ч + Освещение 24 ч
55	Сильный запах + новые объекты 24 ч + наклон клетки 24 ч

56	Стробоскопическое освещение 10 ч + шум 5 ч + инверсия дня и ночи
57	Социальная изоляция 8 ч + депривация пищей 24 ч + темнота 24 ч
58	Тряска 20 мин + Предъявление хищника 24 ч + Мигающий свет 6 ч
59	Новые объекты + Прерывистый свет+ депривация воды с пустыми бутылками 24 ч
60	Сильный запах + шум 6 ч + новые объекты 24 ч
61	Скучивание 10 ч + наклон клетки 24 ч + Освещение 24 ч
62	Плавание 20 мин + Прерывистый свет + Предъявление хищника 24 ч
63	Депривация воды с пустыми бутылками 12 ч + Сильный запах + инверсия дня и ночи
64	Социальная изоляция 8 ч + шум 8 ч + депривация пищей 24 ч
65	Мигающий свет 6 ч + Освещение 24 ч + предъявление хищника 24 ч
66	Тряска 30 мин + скучивание 10 ч
67	Шум 2 ч + Стробоскопическое освещение 6 ч + наклон клетки 24 ч
68	Предъявление хищника 24 ч + темнота 24 ч с Мигающим светом (4 ч)
69	Тряска 20 мин + шум 8 ч + новые объекты 24 ч
70	Социальная изоляция 8 ч + Прерывистый свет + депривация воды и еды 24 ч
71	Плавание 20 мин + Предъявление хищника 24 ч + темнота 24 ч
72	Сильный запах + новые объекты 24 ч + Мигающий свет 10 ч
73	Социальная изоляция 8 ч + Освещение 24 ч
74	Шум 8 ч +Прерывистый свет + депривация пищей 24 ч
75	Скучивание 10 ч + Тряска 30 мин + предъявление хищника 24 ч
76	Депривация воды (с пустыми бутылками) 12 ч + наклон клетки 24 ч + инверсия дня и ночи
77	Шум 6 ч + Стробоскопическое освещение 8 ч + депривация сна 24 ч
78	Предъявление хищника 24 ч +Прерывистый свет 8 ч
79	Социальная изоляция 8 ч + Сильный запах 24 ч + темнота 24 ч
80	Тряска 40 мин + скучивание 8 ч
81	Плавание 30 мин + Стробоскопическое освещение с новыми объектами + шум 4 ч
82	Стресс новизны + наклон клетки 24 ч + инверсия дня и ночи
83	Социальная изоляция 6 ч + шум 6 ч + депривация сна 24 ч
84	Мигающий свет in темнота 6 ч + предъявление хищника 24 ч
85	Поведенческое тестирование: тест приподнятого лабиринта
86	Эвтаназия и сбор образцов

Таблица А.10. Стрессорные манипуляции, использованные для моделирования Хронического Непредсказуемого Стресса у крыс (см. также Таблицу А.9) [193].

Стрессоры	**Описание**	**Ссылки**
Скучивание	Увеличение плотности содержания в клетке в два раза (8 крыс на клетку)	[472]
Сильный запах	Губка, вымоченная в эфирном масле лимон и бергамота, располагалась в 5-10 см от клетки содержания в течение 24 ч. Эфирные масла были выбраны, как аверсивный стимул для крыс	[473]
Новые объекты	Две пластиковые игрушки (6-13 см) помещались в клетку содержания на 24 ч.	[474]

Мигающий свет	В качестве источника мигающего света была использована гирлянда (5 Гц, 150 люкс), расположенная сверху клетки содержания	[475]
Депривация воды	Извлечение бутылки с водой или помещение пустой бутылки в клетку	[27, 476]
Депривация еды	Извлечение еды из клетки	[27, 476]
Тряска	Перемещение тележки (100 x 100 x 150 см) с клетками содержания на постоянной скорости 6 км/ч	[27]
Вынужденное плавание	Крысы индивидуально помещались в 20 л пластиковый контейнер, наполненный водой (22-24 ˚C) без возможности касаться дна контейнера ногами и хвостом	[79]
Стресс новизны	Крысы индивидуально помещались в новые/незнакомые пластиковые контейнеры (39 x 28 x 28 см, 56 x 39 x 28 см или 56 x 39 x 42 см) на 5 мин.	[477]
Инверсия дня и ночи	Отсутствие освещения днем, включение дневных ламп в ночное время	[27, 476]
Предъявление хищника	Моча хищника (кошки) предъявлялась на вымоченной губке и помещалась недалеко от клетки содержания (5-10 см)	[473]
Темнота или свет	Продолжительно (24 часа) включенное или выключенное освещение	[476]
Прерывающееся освещение	Последовательное включение и выключение света в комнате содержания каждые 2 часа в течение 12 часов	[476]
Наклон клетки	Клетки индивидуально наклонялись под углом 45 градусов	[476, 478]
Шум (звук дрели)	Звук 50 дБ с использованием звука из онлайн видео по ссылке www.youtube.com/watch?v=7Xomg2zge-8	[479]
Социальная изоляция	Изоляция крыс в отдельных пластиковых контейнерах (30 x 20 x 20 см) с подстилом	[480]
Депривация сна	Для депривации использовался деревянный подиум (6 см в диаметре, 5 см в высоту) помещенный на пол клетки в противоположной от еды и воды части. Клетка заполнялась водой (22 ˚C) на глубину 3 см, таким образом не позволяя животным находиться в комфортном для сна положении	[481]
Стробоскопическое освещение	Мигающее освещение (160 люкс) произведенное стробоскопом со скоростью 60 вспышек в минуту, в течение 2 минут в клетках содержания	[476]

Таблица А.11. Результаты подобранных Обобщенных Линейных Моделей (ОЛМ) используя день тестирования, группу и их взаимодействие в качестве предикторов для сравнения групп ХНС, флуоксетина и контрольной группы крыс [193]. Скорректированный Информационный Критерий Акаике был использован для определения модели с наибольшим соответствием между распределением Гаусса (идентичная связь), распределением Пуассона (обратная и логарифмическая связь) и обратным распределением Гаусса (с обратной и логарифмической связью) для теста Приподнятого Крестообразного Лабиринта (см. также Таблицы А.12-13 и Рис. 15).

Закрытые рукава, частота	**Обратное распределение Гаусса логарифмическая связь**			
	Оценка	**Стд.Ошибка**	**t**	**P**
(Intercept)	0,89793	0,50358	1,783	0,0806
День	0,22600	0,36520	0,619	0,5388
Группа Флуоксетин	0,63658	0,71913	0,885	0,3803
Группа Стресс	-0,47185	0,66373	-0,711	0,4804

День:Группа Флуоксетин	-0,58779	0,52028	-1,130	0,2640
День:Группа Стресс	-0,09247	0,51455	-0,180	0,8581
Закрытые рукава, сек	**Распределение Гаусса**			
	Оценка	**Стд.Ошибка**	**t**	**P**
(Intercept)	**253,77**	**24,16**	**10,506**	**2,98e-14**
День	2,100	16,87	0,124	0,901
Группа Флуоксетин	21,33	36,13	0,590	0,558
Группа Стресс	-11,27	36,59	-0,308	0,759
День:Группа Флуоксетин	-12,65	26,61	-0,476	0,636
День:Группа Стресс	16,96	28,24	0,601	0,551
Открытые рукава, частота	**Распределение Пуассона**			
	Оценка	**Стд.Ошибка**	**z**	**P**
(Intercept)	**1,15319**	**0,33561**	**3,436**	**0,00059**
День	-0,00965	0,23440	-0,041	0,96716
Группа Флуоксетин	-0,22959	0,50206	-0,457	0,64745
Группа Стресс	0,57870	0,50840	1,138	0,25500
День:Группа Флуоксетин	0,16022	0,36970	0,433	0,66473
День:Группа Стресс	**-0,85622**	**0,39231**	**-2,183**	**0,02907**
Открытые рукава, сек	**Обратное распределение Гаусса логарифмическая связь**			
	Оценка	**Стд.Ошибка**	**t**	**P**
(Intercept)	**3,1684**	**0,9874**	**3,209**	**0,00233**
День	-0,1600	0,6716	-0,238	0,81262
Группа Флуоксетин	-0,5126	0,57771	-0,339	0,73579
Группа Стресс	-0,64384	1,1447	1,363	0,17889
День:Группа Флуоксетин	0,4195	1,1316	0,371	0,71240
День:Группа Стресс	**-2,2045**	**0,7503**	**-2,938**	**0,00498**

Таблица А.12. Результаты анализа по ANOVA типа 2 (тест Хи-квадрата Валда) для Обобщенных линейных моделей используя группу (контроль, ХНС и флуоксетин), день тестирования и их взаимодействие в качестве предикторов (Таблица А.11) для крыс в тесте Приподнятого Крестообразного лабиринта, см. также Таблицу А.13 [193]. Df – степени свободы.

Факторы	**Df**	χ^2	**P**
		Закрытые рукава, частота	
День	1	0,000258144444594892	0,987181040710445
Группа	**2**	**9,90776011066659**	**0,00705597816132115**
День:Группа	2	1,4716091691711	0,479119811437751
		Закрытые рукава, сек	
День	1	0,0492081843975094	0,82444686419516
Группа	2	0,541215513219405	0,762915686358917
День:Группа	2	0,937930505529035	0,625649322362953
		Открытые рукава, частота	
День	1	1,2375653986184	0,265940777273002
Группа	**2**	**8,76336869954402**	**0,0125042792936004**
День:Группа	**2**	**6,61777433991574**	**0,0365568326679518**
		Открытые рукава, сек	
День	**1**	**36,2734138900435**	**1,7148732934739e-09**
Группа	**2**	**25,7309501105542**	**2,58580146058665e-06**

День:Группа	**2**	**13,8306981737093**	**0,000992434952240831**

Таблица А.13. Результаты пост-хок теста Туки для статистически значимого по ANOVA предиктора группа обобщенной линейной модели (ОЛМ) сравнивающей эффекты ХНС, флуоксетина и контрольной группы в тесте Приподнятого Крестообразного лабиринта, см. также Таблицы А.11-12 [193].

Контраст	**Оценка**	**Стд, ошибка**	**z**	**p**
Закрытые рукава, частота				
Контроль-Стресс	**0,610546922893836**	**0,257277040173638**	**2,3731108010329**	**0,0176389716442184**
Контроль-Флуоксетин	0,245103168622314	0,260138601611405	0,942202222599967	0,346089116221525
Стресс-Флуоксетин	-0,365443754271523	0,259186155899846	-1,40996633482514	0,158549623694827
Открытые рукава, частота				
Контроль-Стресс	**0,70562867847405**	**0,196152611681815**	**3,59734531405919**	**0,00032148156519638**
Контроль-Флуоксетин	-0,0107400068146624	0,184848467789041	-0,0581016815726028	0,953667634956621
Стресс-Флуоксетин	**-0,716368685288713**	**0,212537704045719**	**-3,37054871513345**	**0,000750186407117175**
Открытые рукава, сек				
Контроль-Флуоксетин	-0,116740169278497	0,565824220599949	-0,206318791293021	0,836541900963172
Контроль-Стресс	**1,74607531385393**	**0,375127437162614**	**4,65461904642562**	**3,24580260973444e-06**
Флуоксетин-Стресс	**1,86281548313243**	**0,48516293456426**	**3,83956677318205**	**0,0001232516056595**

Таблица А.14. Результаты статистического анализа дифференциальной экспрессии генов в суббикулуме человека в группе БДР против контрольной группы, с использованием Отрицательного Биномиального (Гамма-Пуассон) распределения для определения размеров факторов, дисперсии, создания отрицательных биномиальных обобщенных линейных моделей и статистики Вальда, используя функцию DESeq (Эксперимент 1) [373, 482]. P значение и FDR установлены в 0,05.

Ensembl ID	**Имя гена**	**Норм.ср.**	**Измен.log2**	**Стд. ошиб.**	**stat**	**p**	**p adj**
ENSG00000228971	LINC02607	583,1221	-1,70525	0,296063	-5,75973	8,42E-09	0,000129
ENSG00000072657	TRHDE	2478,091	-1,39391	0,254948	-5,46741	4,57E-08	0,000351
ENSG00000206306	HLA-DRB1	119,9883	-3,13795	0,584804	-5,36581	8,06E-08	0,000413
ENSG00000228080	HLA-DRB1	119,9883	-3,13795	0,584804	-5,36581	8,06E-08	0,000413
ENSG00000196126	HLA-DRB1	119,9883	-3,13795	0,584804	-5,36581	8,06E-08	0,000413
ENSG00000229074	HLA-DRB1	119,9883	-3,13795	0,584804	-5,36581	8,06E-08	0,000413
ENSG00000206240	HLA-DRB1	119,9883	-3,13795	0,584804	-5,36581	8,06E-08	0,000413
ENSG00000236884	HLA-DRB1	119,9883	-3,13795	0,584804	-5,36581	8,06E-08	0,000413
ENSG00000107105	ELAVL2	4363,99	-1,06935	0,216867	-4,93089	8,19E-07	0,002959
ENSG00000276495	APBA2	139,1171	-2,32477	0,474534	-4,89907	9,63E-07	0,002959
ENSG00000034053	APBA2	139,1171	-2,32477	0,474534	-4,89907	9,63E-07	0,002959
ENSG00000110799	VWF	831,6272	0,799513	0,174939	4,570246	4,87E-06	0,010692
ENSG00000164600	NEUROD6	4755,992	-1,22826	0,276449	-4,44301	8,87E-06	0,017036
ENSG00000121769	FABP3	3162,147	-0,91524	0,214055	-4,27572	1,91E-05	0,032522
ENSG00000145335	SNCA	8612,551	-0,79021	0,185892	-4,25093	2,13E-05	0,032706
ENSG00000104435	STMN2	23949,2	-0,68666	0,163157	-4,20858	2,57E-05	0,0329
ENSG00000145428	RNF175	728,6949	-0,71876	0,170753	-4,20935	2,56E-05	0,0329
ENSG00000162636	FAM102B	4363,323	-0,68536	0,164664	-4,1622	3,15E-05	0,035557
ENSG00000183662	TAFA1	1539,503	-0,89774	0,216016	-4,15589	3,24E-05	0,035557

ENSG00000019505	SYT13	5645,472	-0,96998	0,234776	-4,1315	3,6E-05	0,036912
ENSG00000107295	SH3GL2	6528,436	-0,81692	0,198764	-4,11002	3,96E-05	0,037987
ENSG00000283486	FAM95C	263,9834	1,595475	0,391803	4,072141	4,66E-05	0,042097
ENSG00000196169	KIF19	86,21406	1,48732	0,371343	4,005246	6,2E-05	0,048559
ENSG00000180347	ITPRID1	133,1223	1,258958	0,314702	4,000475	6,32E-05	0,048559
ENSG00000196950	SLC39A10	8492,392	-0,59877	0,14907	-4,01672	5,9E-05	0,048559

Таблица А.15. Результаты статистического анализа дифференциальной экспрессии генов в гиппокампе крыс в группе ХНС против контрольной группы, с использованием Отрицательного Биномиального (Гамма-Пуассон) распределения для определения размеров факторов, дисперсии, создания отрицательных биномиальных обобщенных линейных моделей и статистики Вальда, используя функцию DESeq (Эксперимент 1) [373, 482]. P значение и FDR установлены в 0,05.

Ensembl ID	**Имя гена**	**Норм.ср.**	**Измен.log2**	**Стд. ошиб.**	**stat**	**p**	**p adj**
ENSRNOG00000007027	Hgf	402,9687	1,881954	0,277063	6,79252	1,1E-11	1,72E-07
ENSRNOG00000032063	Gfral	29,41118	-4,88717	0,771475	-6,33484	2,38E-10	1,86E-06
ENSRNOG00000009206	Fezf2	892,2903	1,00551	0,17355	5,793776	6,88E-09	3,59E-05
ENSRNOG00000007189	Ttc22	395,3506	1,654937	0,302629	5,468535	4,54E-08	0,000178
ENSRNOG00000008182	Htra3	555,3568	1,112187	0,218047	5,100679	3,38E-07	0,001059
ENSRNOG00000005565	Traf3ip3	240,6712	1,318955	0,263839	4,999088	5,76E-07	0,001502
ENSRNOG00000003237	Tp53bp2	5684,032	1,207942	0,245775	4,914829	8,89E-07	0,001809
ENSRNOG00000006850	Ovol2	48,68037	4,566898	0,931696	4,901701	9,5E-07	0,001809
ENSRNOG00000013681	Kcns1	296,1628	1,418264	0,290402	4,883797	1,04E-06	0,001809
ENSRNOG00000003738	Ush2a	53,62552	-1,88434	0,394877	-4,77197	1,82E-06	0,002855
ENSRNOG00000016553	Vwa5b1	179,2027	-2,17474	0,466476	-4,66206	3,13E-06	0,004082
ENSRNOG00000021663	Vxn	16025,48	1,219877	0,261061	4,672773	2,97E-06	0,004082
ENSRNOG00000010597	Slc5a7	297,3285	-2,71896	0,588485	-4,62027	3,83E-06	0,004613
ENSRNOG00000002930	Ppl	557,1387	-3,70883	0,81792	-4,53447	5,77E-06	0,006455
ENSRNOG00000029165	Stx1a	6547,811	1,773803	0,399162	4,443819	8,84E-06	0,009219
ENSRNOG00000001036	Rsph10b	858,3706	-1,71746	0,397489	-4,32077	1,55E-05	0,014942
ENSRNOG00000009582	Rpe65	171,7668	-1,47984	0,343251	-4,31125	1,62E-05	0,014942
ENSRNOG00000026087	Igfn1	64,18883	2,060646	0,482999	4,26636	1,99E-05	0,017273
ENSRNOG00000006674	Rflnb	162,487	-1,13819	0,267591	-4,25349	2,1E-05	0,017333
ENSRNOG00000046001	AABR07030823,1	361,3258	-1,92709	0,454677	-4,23837	2,25E-05	0,017615
ENSRNOG00000016069	Cd3e	355,1246	-7,42458	1,806011	-4,11104	3,94E-05	0,028016
ENSRNOG00000046276	Myh3	45,12269	2,764341	0,672209	4,112322	3,92E-05	0,028016
ENSRNOG00000037196	Spag17	35,65181	-3,14672	0,767816	-4,09827	4,16E-05	0,028319
ENSRNOG00000055858	Myb	46,15645	-1,99927	0,489529	-4,08407	4,43E-05	0,028853
ENSRNOG00000016552	Hmgcs1	19742,62	0,758725	0,186912	4,059259	4,92E-05	0,030813
ENSRNOG00000019317	Cplx3	290,6864	2,425395	0,603178	4,021028	5,79E-05	0,032712
ENSRNOG00000025848	Sspo	118,0201	-4,26712	1,06183	-4,01865	5,85E-05	0,032712
ENSRNOG00000030016	Robo3	786,2084	-3,018	0,747903	-4,03529	5,45E-05	0,032712
ENSRNOG00000009946	Ldlr	1374,697	-0,76938	0,192215	-4,0027	6,26E-05	0,033574
ENSRNOG00000029938	Pik3c2b	911,4091	-0,82297	0,205937	-3,9962	6,44E-05	0,033574
ENSRNOG00000039107	Mfrp	139,0656	-3,26553	0,821798	-3,97364	7,08E-05	0,035729
ENSRNOG00000001346	Cops6	9958,779	0,636455	0,162577	3,914801	9,05E-05	0,041554
ENSRNOG00000006649	Thrb	2444,081	1,317001	0,335973	3,919956	8,86E-05	0,041554

ENSRNOG00000011824	Trh	247,3715	-2,67136	0,683507	-3,90831	9,29E-05	0,041554
ENSRNOG00000020485	Vav3	1317,465	-1,86878	0,475956	-3,92637	8,62E-05	0,041554
ENSRNOG00000026091	Slc10a4	98,70734	-2,86075	0,733925	-3,89787	9,7E-05	0,04218
ENSRNOG00000004889	Vangl2	360,6807	-1,16871	0,304594	-3,83695	0,000125	0,044303
ENSRNOG00000006146	Trim54	167,1473	2,737984	0,709031	3,861584	0,000113	0,044303
ENSRNOG00000006970	Ntn3	269,1672	0,939737	0,244728	3,839927	0,000123	0,044303
ENSRNOG00000017659	Hs3st2	401,2136	1,785493	0,465072	3,839176	0,000123	0,044303
ENSRNOG00000033261	Fam107a	39655,42	0,959723	0,250035	3,838351	0,000124	0,044303
ENSRNOG00000034228	Pik3c2g	34,04206	-1,96952	0,513004	-3,83918	0,000123	0,044303
ENSRNOG00000043410	Cfap300	172,7566	-1,25588	0,325085	-3,86323	0,000112	0,044303
ENSRNOG00000047393	Krt18	80,52144	-2,28045	0,59312	-3,84484	0,000121	0,044303
ENSRNOG00000047393	Krt18	80,52144	-2,28045	0,59312	-3,84484	0,000121	0,044303
ENSRNOG00000054157	Nadk2	6214,314	0,548425	0,143574	3,819792	0,000134	0,046445
ENSRNOG00000011503	Shb	315,9821	-0,78997	0,207439	-3,8082	0,00014	0,047618

Таблица А.16. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов в суббикулуме человека в группе БДР против контрольной группы, с использованием наборов KEGG, обогащение которых оценивалось с использованием нормализованных и лог2-трансформированных подсчетов, при помощи функции общепримениый анализ обогащения по функциональной принадлежности (GAGE; Эксперимент 1) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Код и название пути	**p.geomean**	**stat.mean**	**p**	**q**	**set.size**
Снизившие экспрессию					
hsa05010 Alzheimer's disease	3,49E-06	-4,11165	9,03E-13	2,75E-10	354
hsa05012 Parkinson's disease	3,84E-06	-4,01005	4,17E-12	6,34E-10	239
hsa05014 Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	2,34E-05	-3,81672	2,77E-11	2,71E-09	352
hsa05016 Huntington's disease	1,53E-05	-3,80574	3,57E-11	2,71E-09	296
hsa05020 Prion diseases	1,33E-05	-3,72127	1,02E-10	6,22E-09	258
hsa00190 Oxidative phosphorylation	0,000249	-2,85921	6,67E-07	3,38E-05	129
hsa04141 Protein processing in endoplasmic reticulum	0,002934	-2,54964	6,37E-06	0,000277	162
hsa04932 Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	0,00234	-2,50714	9,08E-06	0,00031	144
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	0,00216	-2,50317	9,18E-06	0,00031	147
hsa04144 Endocytosis	0,007204	-2,42309	1,45E-05	0,000442	247
hsa03050 Proteasome	0,013337	-2,20299	9,94E-05	0,002748	43
hsa05132 Salmonella infection	0,014806	-1,97907	0,000322	0,008158	242
hsa05203 Viral carcinogenesis	0,018831	-1,91241	0,00049	0,011113	191
hsa04720 Long-term potentiation	0,024275	-1,91014	0,000542	0,011113	66
hsa04120 Ubiquitin mediated proteolysis	0,017009	-1,90206	0,000548	0,011113	140
hsa04961 Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	0,03347	-1,79956	0,001047	0,019895	50
hsa04070 Phosphatidylinositol signaling system	0,036375	-1,75836	0,001247	0,021288	96
hsa03040 Spliceosome	0,027918	-1,75562	0,00126	0,021288	140
hsa03013 RNA transport	0,033042	-1,70589	0,001635	0,026161	176
hsa04140 Autophagy - animal	0,031896	-1,67827	0,001943	0,029152	135
hsa04730 Long-term depression	0,042124	-1,67146	0,002097	0,029152	57
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	0,038339	-1,65288	0,002189	0,029152	151

hsa05032 Morphine addiction	0,045436	-1,65123	0,002239	0,029152	90
hsa04728 Dopaminergic synapse	0,048628	-1,64251	0,002302	0,029152	127
hsa04150 mTOR signaling pathway	0,044761	-1,61578	0,002661	0,031557	150
hsa04725 Cholinergic synapse	0,030497	-1,6201	0,002699	0,031557	113
hsa04145 Phagosome	0,048536	-1,58089	0,003217	0,035162	133
hsa03020 RNA polymerase	0,04288	-1,62021	0,003239	0,035162	31
hsa04721 Synaptic vesicle cycle	0,056264	-1,5736	0,003387	0,035502	76
hsa04137 Mitophagy - animal	0,052555	-1,51325	0,004776	0,048395	66
hsa04724 Glutamatergic synapse	0,061127	-1,49279	0,00503	0,049327	112
Обогащенные в абсолютном значении					
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	5,47E-07	4,815058	8,46E-17	2,57E-14	316
hsa05150 Staphylococcus aureus infection	0,004399	2,638553	4,39E-06	0,000533	52
hsa05332 Graft-versus-host disease	0,005939	2,688021	7,12E-06	0,000533	23
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	0,005856	2,5234	8,34E-06	0,000533	81
hsa04610 Complement and coagulation cascades	0,005084	2,510456	9,25E-06	0,000533	76
hsa05323 Rheumatoid arthritis	0,007059	2,479163	1,18E-05	0,000533	73
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0,007239	2,456054	1,23E-05	0,000533	135
hsa05330 Allograft rejection	0,007763	2,562593	1,4E-05	0,000534	25
hsa05144 Malaria	0,009431	2,357339	3,17E-05	0,000991	49
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0,010933	2,29777	3,64E-05	0,000991	255
hsa04940 Type I diabetes mellitus	0,010599	2,392429	3,9E-05	0,000991	29
hsa04020 Calcium signaling pathway	0,004718	2,296864	3,91E-05	0,000991	233
hsa04974 Protein digestion and absorption	0,011532	2,284009	4,39E-05	0,001027	99
hsa04672 Intestinal immune network for IgA production	0,012509	2,285432	5,88E-05	0,001277	38
hsa04512 ECM-receptor interaction	0,013643	2,217787	7,11E-05	0,001441	85
hsa04742 Taste transduction	0,017317	2,105414	0,000157	0,002976	67
hsa05140 Leishmaniasis	0,020341	2,038571	0,000246	0,004234	65
hsa05320 Autoimmune thyroid disease	0,021985	2,058808	0,000251	0,004234	41
hsa05322 Systemic lupus erythematosus	0,02584	1,934068	0,000438	0,007005	109
hsa05033 Nicotine addiction	0,029429	1,827891	0,000957	0,014083	40
hsa04145 Phagosome	0,035331	1,798504	0,000973	0,014083	133
hsa05143 African trypanosomiasis	0,03454	1,772496	0,001354	0,018706	34
hsa04950 Maturity onset diabetes of the young	0,04713	1,689918	0,002263	0,029905	20
hsa04612 Antigen processing and presentation	0,049501	1,63078	0,002755	0,034902	48
hsa05416 Viral myocarditis	0,054312	1,59989	0,00319	0,03879	48

Таблица А.17. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов в гиппокампе крыс в группе ХНС против контрольной группы, с использованием наборов KEGG, обогащение которых оценивалось с использованием нормализованных и лог2-трансформированных подсчетов, при помощи функции общеприменимый анализ обогащения по функциональной принадлежности (GAGE; Эксперимент 1) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Код и название пути	**p.geomean**	**stat.mean**	**p.val**	**q.val**	**set.size**
Обогащенные в абсолютном значении					

rno04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	5,28E-10	6,156581	7,78E-26	2,35E-23	308
rno04020 Calcium signaling pathway	1,25E-05	4,202168	3,23E-13	4,88E-11	228
rno04024 cAMP signaling pathway	0,001263	3,029862	9,48E-08	9,54E-06	204
rno04512 ECM-receptor interaction	0,001888	2,937281	2,72E-07	2,06E-05	83
rno04974 Protein digestion and absorption	0,003102	2,667433	2,68E-06	0,000162	88
rno04725 Cholinergic synapse	0,006011	2,517783	7,74E-06	0,00039	111
rno05205 Proteoglycans in cancer	0,007612	2,421101	1,5E-05	0,000647	196
rno05033 Nicotine addiction	0,007803	2,446016	1,88E-05	0,00071	40
rno04916 Melanogenesis	0,008593	2,376201	2,34E-05	0,000786	94
rno04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0,010273	2,284123	4,24E-05	0,001279	152
rno04360 Axon guidance	0,011027	2,25213	5,22E-05	0,001433	177
rno05217 Basal cell carcinoma	0,01534	2,175383	0,000103	0,002589	60
rno05144 Malaria	0,015083	2,163642	0,000116	0,002589	49
rno05032 Morphine addiction	0,012979	2,142934	0,00012	0,002589	91
rno04510 Focal adhesion	0,017356	2,07428	0,000173	0,003479	195
rno05332 Graft-versus-host disease	0,019409	2,084472	0,000198	0,00355	45
rno04151 PI3K-Akt signaling pathway	0,019848	2,043605	0,000206	0,00355	318
rno04713 Circadian entrainment	0,019103	2,05153	0,000212	0,00355	94
rno04550 Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	0,01962	2,031009	0,000236	0,003751	132
rno04911 Insulin secretion	0,022237	2,022297	0,000257	0,003877	79
rno04390 Hippo signaling pathway	0,021422	2,002419	0,000279	0,004011	152
rno05414 Dilated cardiomyopathy	0,023994	1,986874	0,000318	0,00437	92
rno04310 Wnt signaling pathway	0,025012	1,963281	0,000354	0,004654	156
rno04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0,025925	1,933765	0,000418	0,005081	232
rno05320 Autoimmune thyroid disease	0,02198	1,968404	0,000421	0,005081	51
rno04022 cGMP-PKG signaling pathway	0,026785	1,908573	0,000497	0,005768	161
rno04925 Aldosterone synthesis and secretion	0,028509	1,889699	0,000577	0,006458	91
rno05330 Allograft rejection	0,027437	1,89411	0,000639	0,006896	45
rno04726 Serotonergic synapse	0,031746	1,860567	0,000674	0,007018	109
rno04727 GABAergic synapse	0,031528	1,838824	0,000781	0,00785	90
rno04940 Type I diabetes mellitus	0,032171	1,846487	0,000806	0,00785	52
rno05416 Viral myocarditis	0,031327	1,831201	0,000845	0,007976	74
rno05030 Cocaine addiction	0,03501	1,810879	0,00102	0,009338	47
rno05224 Breast cancer	0,041262	1,739239	0,001347	0,011962	140
rno04724 Glutamatergic synapse	0,037539	1,726134	0,001475	0,012726	111
rno05031 Amphetamine addiction	0,040831	1,72049	0,001584	0,013286	66
rno04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0,04121	1,678254	0,0019	0,01551	144
rno04970 Salivary secretion	0,042116	1,676596	0,001989	0,015808	73
rno05150 Staphylococcus aureus infection	0,048764	1,665001	0,002084	0,016138	79
rno05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0,048405	1,652762	0,002221	0,016771	89
rno04270 Vascular smooth muscle contraction	0,047929	1,643108	0,002303	0,016962	128
rno04742 Taste transduction	0,051158	1,615624	0,002779	0,019985	59
rno04921 Oxytocin signaling pathway	0,056456	1,577427	0,003232	0,022696	149
rno04640 Hematopoietic cell lineage	0,056987	1,567807	0,003495	0,023981	80
rno04971 Gastric acid secretion	0,059906	1,562787	0,003573	0,023981	73
rno04750 Inflammatory mediator regulation of TRP channels	0,062593	1,539136	0,003975	0,025972	100

rno04371 Apelin signaling pathway	0,057528	1,534992	0,004042	0,025972	133
rno05143 African trypanosomiasis	0,055835	1,53999	0,004303	0,027074	37
rno04728 Dopaminergic synapse	0,050506	1,508809	0,004677	0,028825	129
rno00830 Retinol metabolism	0,062863	1,508464	0,00478	0,028872	64
rno04918 Thyroid hormone synthesis	0,066444	1,481413	0,00547	0,03239	71
rno04610 Complement and coagulation cascades	0,065628	1,461396	0,006011	0,034908	77
rno04015 Rap1 signaling pathway	0,075229	1,431529	0,006671	0,038014	204
rno04978 Mineral absorption	0,074575	1,429843	0,007033	0,039332	51
rno04014 Ras signaling pathway	0,080603	1,399161	0,007778	0,042707	218
rno05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	0,085488	1,371483	0,009061	0,048863	75
Повысившие экспрессию					
rno03010 Ribosome	3,37E-06	3,863552	4,09E-11	1,24E-08	177
rno05140 Leishmaniasis	0,003861	2,615486	4,37E-06	0,00066	67
rno05145 Toxoplasmosis	0,008595	2,271695	4,98E-05	0,004193	103
rno05152 Tuberculosis	0,010626	2,244867	5,55E-05	0,004193	155
rno04380 Osteoclast differentiation	0,01247	2,153308	0,000108	0,006521	118
rno05323 Rheumatoid arthritis	0,017972	2,08107	0,000178	0,008984	78
rno00190 Oxidative phosphorylation	0,001352	2,04485	0,000354	0,015273	121
rno04217 Necroptosis	0,026044	1,866219	0,000654	0,023023	138
rno04621 NOD-like receptor signaling pathway	0,028717	1,855761	0,000686	0,023023	156
rno04066 HIF-1 signaling pathway	0,033375	1,778905	0,001104	0,033335	102
rno05310 Asthma	0,032838	1,781298	0,001521	0,041757	20
rno05020 Prion diseases	0,007176	1,699032	0,001784	0,042494	255
rno04145 Phagosome	0,046467	1,683126	0,001829	0,042494	161

Таблица А.18. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов в цельном мозге *Danio rerio* в группах ХНС против контрольной группы, с использованием наборов KEGG, обогащение которых оценивалось с использованием нормализованных и лог2-трансформированных подсчетов, при помощи функции общеприменимый анализ обогащения по функциональной принадлежности (GAGE; Эксперимент 1) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Код и название пути	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Обогащенные в абсолютном значении					
dre04020 Calcium signaling pathway	0,004314	2,588289	1,32E-10	1,99E-08	330
dre04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0,005299	2,443404	1,35E-09	1,02E-07	220
dre04010 MAPK signaling pathway	0,003181	2,395348	2,57E-09	1,29E-07	381
dre04512 ECM-receptor interaction	0,006457	2,386706	3,79E-09	1,43E-07	97
dre04510 Focal adhesion	0,021531	1,956686	8,82E-07	2,66E-05	257
dre04912 GnRH signaling pathway	0,018279	1,90655	1,82E-06	4,57E-05	121
dre04920 Adipocytokine signaling pathway	0,028215	1,759246	9,83E-06	0,000203	89
dre04260 Cardiac muscle contraction	0,021	1,755792	1,07E-05	0,000203	134
dre04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0,047469	1,635956	3,28E-05	0,00055	148
dre00230 Purine metabolism	0,05792	1,505363	0,000119	0,001804	158
dre04620 Toll-like receptor signaling pathway	0,06692	1,478278	0,000157	0,002158	99
dre04371 Apelin signaling pathway	0,062956	1,45027	0,0002	0,002514	176
dre04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0,05287	1,178655	0,002056	0,02388	193
dre04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	0,106575	1,162578	0,00222	0,023941	468
Повысившие экспрессию					
dre00190 Oxidative phosphorylation	2,42E-06	2,494845	2,63E-09	3,96E-07	140
dre01200 Carbon metabolism	0,010699	1,814885	5,59E-06	0,000422	136
dre00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0,022143	1,714605	1,72E-05	0,000864	80
dre03040 Spliceosome	0,001216	1,602476	5,5E-05	0,002075	140
dre04260 Cardiac muscle contraction	0,025117	1,466424	0,000203	0,006132	134
dre00071 Fatty acid degradation	0,044922	1,334714	0,000662	0,016652	52
dre00480 Glutathione metabolism	0,0483	1,190117	0,001936	0,041758	63
dre01212 Fatty acid metabolism	0,075775	1,1347	0,002967	0,047066	67
dre03410 Base excision repair	0,046291	1,161291	0,00311	0,047066	37
dre00983 Drug metabolism - other enzymes	0,068099	1,121606	0,003176	0,047066	83
dre00240 Pyrimidine metabolism	0,098205	1,101179	0,003751	0,047066	67
dre03460 Fanconi anemia pathway	0,097773	1,098324	0,004021	0,047066	49
dre00062 Fatty acid elongation	0,114173	1,096112	0,004052	0,047066	35
Снизившие экспрессию					
dre04010 MAPK signaling pathway	0,000125	-2,07905	2,17E-07	3,28E-05	381
dre04620 Toll-like receptor signaling pathway	0,01601	-1,86209	3,23E-06	0,000225	99
dre04621 NOD-like receptor signaling pathway	0,017636	-1,82603	4,48E-06	0,000225	159
dre04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0,081285	-1,31752	0,000643	0,019971	193
dre04622 RIG-I-like receptor signaling pathway	0,062432	-1,32613	0,000661	0,019971	62

Таблица А.19. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов в объединенной при помощи картрирования ортологов 1:1:1 группе БДР и ХНС против объединенной контрольной группы, с использованием наборов KEGG, обогащение которых оценивалось с использованием нормализованных и лог2-трансформированных подсчетов, при помощи функции общеприменимый анализ обогащения по функциональной принадлежности (GAGE; Эксперимент 2) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Код и название пути	**p.geomean**	**stat.mean**	**p.val**	**q.val**	**set.size**
Обогащенные в абсолютном значении					
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	6,43E-05	3,747224	7,93E-38	2,36E-35	199
hsa04020 Calcium signaling pathway	0,002036	2,756785	1,47E-21	2,18E-19	175
hsa04512 ECM-receptor interaction	0,0103	2,291673	2,86E-15	2,83E-13	60
hsa05414 Dilated cardiomyopathy	0,011529	2,175357	5,66E-14	4,21E-12	73
hsa04024 cAMP signaling pathway	0,014065	2,128332	1,14E-13	6,8E-12	164
hsa05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0,018104	2,042219	1,44E-12	7,13E-11	69
hsa04742 Taste transduction	0,031838	1,852065	1,53E-10	6,51E-09	37
hsa05033 Nicotine addiction	0,029919	1,83466	2,93E-10	1,09E-08	31
hsa05032 Morphine addiction	0,020663	1,793306	5,03E-10	1,66E-08	73
hsa04510 Focal adhesion	0,035082	1,751335	7,62E-10	2,26E-08	156
hsa04360 Axon guidance	0,028882	1,727033	1,36E-09	3,68E-08	145
hsa04724 Glutamatergic synapse	0,033114	1,689927	3,48E-09	8,61E-08	85
hsa04010 MAPK signaling pathway	0,035732	1,671304	3,96E-09	9,05E-08	223
hsa04725 Cholinergic synapse	0,037452	1,661053	5,86E-09	1,24E-07	92
hsa05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	0,047739	1,648319	7,74E-09	1,49E-07	59
hsa04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0,033242	1,643525	8,01E-09	1,49E-07	110
hsa05200 Pathways in cancer	0,038035	1,626444	9,4E-09	1,64E-07	374
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	0,042373	1,594397	1,83E-08	2,96E-07	242
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	0,043272	1,59675	1,9E-08	2,96E-07	118
hsa04713 Circadian entrainment	0,055321	1,511983	1,06E-07	1,57E-06	69
hsa04974 Protein digestion and absorption	0,054494	1,493315	1,56E-07	2,21E-06	63
hsa04925 Aldosterone synthesis and secretion	0,050952	1,484697	1,74E-07	2,35E-06	75
hsa04726 Serotonergic synapse	0,066804	1,471338	2,08E-07	2,69E-06	76
hsa05146 Amoebiasis	0,07315	1,429375	4,49E-07	5,55E-06	59
hsa04380 Osteoclast differentiation	0,076023	1,344395	1,86E-06	2,21E-05	83
hsa05030 Cocaine addiction	0,087137	1,316132	3,41E-06	3,89E-05	38
hsa04668 TNF signaling pathway	0,085639	1,305408	3,54E-06	3,89E-05	71
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0,070836	1,302955	3,82E-06	4,05E-05	83
hsa04610 Complement and coagulation cascades	0,052226	1,321515	4,09E-06	4,19E-05	46
hsa04727 GABAergic synapse	0,075184	1,29523	4,42E-06	4,38E-05	70
hsa05031 Amphetamine addiction	0,088336	1,26116	7,87E-06	7,54E-05	46
hsa04923 Regulation of lipolysis in adipocytes	0,093031	1,24333	1,04E-05	9,63E-05	45
hsa04015 Rap1 signaling pathway	0,105125	1,206869	1,52E-05	0,000135	162
hsa04728 Dopaminergic synapse	0,088897	1,207947	1,61E-05	0,000135	95
hsa04918 Thyroid hormone synthesis	0,107011	1,210822	1,62E-05	0,000135	54

hsa04933 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	0,098533	1,206712	1,64E-05	0,000135	71
hsa04913 Ovarian steroidogenesis	0,090988	1,208348	1,9E-05	0,000153	39
hsa05205 Proteoglycans in cancer	0,076901	1,19177	1,99E-05	0,000156	162
hsa04912 GnRH signaling pathway	0,078631	1,197353	2,05E-05	0,000156	65
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	0,097233	1,18653	2,14E-05	0,000159	107
hsa04917 Prolactin signaling pathway	0,093764	1,185497	2,42E-05	0,000166	58
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	0,092253	1,202767	2,43E-05	0,000166	23
hsa04924 Renin secretion	0,108886	1,183691	2,44E-05	0,000166	44
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0,113258	1,178033	2,46E-05	0,000166	72
hsa04976 Bile secretion	0,120613	1,162656	3,16E-05	0,000209	50
hsa05133 Pertussis	0,089438	1,144918	5,01E-05	0,000323	43
hsa04740 Olfactory transduction	0,11329	1,103163	9,38E-05	0,000593	25
hsa04390 Hippo signaling pathway	0,107835	1,054247	0,00014	0,00085	120
hsa05150 Staphylococcus aureus infection	0,103762	1,087561	0,00014	0,00085	22
hsa05144 Malaria	0,125834	1,062982	0,000155	0,000919	23
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	0,097371	1,043756	0,000165	0,000963	120
hsa04916 Melanogenesis	0,100434	1,044096	0,000173	0,000986	81
hsa04911 Insulin secretion	0,110966	1,013207	0,000253	0,001419	58
hsa04971 Gastric acid secretion	0,111337	0,99542	0,000328	0,001805	50
hsa04270 Vascular smooth muscle contraction	0,140633	0,979952	0,000368	0,001987	78
hsa04750 Inflammatory mediator regulation of TRP channels	0,143622	0,979324	0,000376	0,001992	62
hsa05418 Fluid shear stress and atherosclerosis	0,146413	0,965169	0,000434	0,002261	96
hsa04371 Apelin signaling pathway	0,159676	0,936328	0,000615	0,003149	100
hsa05320 Autoimmune thyroid disease	0,158784	0,982107	0,000647	0,003255	10
hsa04014 Ras signaling pathway	0,152909	0,928409	0,000668	0,003306	164
hsa04970 Salivary secretion	0,122053	0,923143	0,000801	0,003901	51
hsa04659 Th17 cell differentiation	0,150241	0,909645	0,000879	0,004208	60
hsa04260 Cardiac muscle contraction	0,14605	0,908278	0,000912	0,004298	56
hsa04550 Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	0,146366	0,901617	0,000938	0,004351	111
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	0,167786	0,896403	0,001001	0,004573	70
hsa04744 Phototransduction	0,085489	1,005784	0,001093	0,004917	19
hsa04540 Gap junction	0,172421	0,855701	0,001593	0,007061	70
hsa04310 Wnt signaling pathway	0,123629	0,834726	0,002038	0,008901	122
hsa00830 Retinol metabolism	0,17417	0,824523	0,002588	0,011141	25
hsa05204 Chemical carcinogenesis	0,185074	0,807223	0,003039	0,012893	20
hsa05202 Transcriptional misregulation in cancer	0,189504	0,790851	0,003151	0,012907	119
hsa04930 Type II diabetes mellitus	0,136246	0,802107	0,003158	0,012907	40
hsa04062 Chemokine signaling pathway	0,17057	0,791513	0,003172	0,012907	115
hsa02010 ABC transporters	0,199764	0,77908	0,003772	0,015139	30
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	0,173363	0,766497	0,004222	0,016718	50
hsa04611 Platelet activation	0,21025	0,750968	0,004752	0,018569	90
hsa04721 Synaptic vesicle cycle	0,174376	0,751912	0,004965	0,019151	54
hsa05416 Viral myocarditis	0,206648	0,751062	0,005139	0,019569	24
hsa04660 T cell receptor signaling pathway	0,220491	0,741125	0,005251	0,019743	73
hsa00910 Nitrogen metabolism	0,207374	0,741918	0,006424	0,023848	12
hsa05321 Inflammatory bowel disease (IBD)	0,194381	0,69712	0,008996	0,03274	23

hsa05222 Small cell lung cancer	0,225411	0,685255	0,009039	0,03274	72
hsa05224 Breast cancer	0,202341	0,68059	0,009421	0,033711	118
hsa05140 Leishmaniasis	0,203921	0,668531	0,010979	0,038817	42
hsa04915 Estrogen signaling pathway	0,210616	0,645201	0,013004	0,045357	83
hsa05161 Hepatitis B	0,221626	0,642686	0,013202	0,045357	118
hsa05217 Basal cell carcinoma	0,162746	0,649796	0,013348	0,045357	55
hsa05166 HTLV-I infection	0,242782	0,639881	0,013439	0,045357	158
Повысившие экспрессию					
hsa00071 Fatty acid degradation	0,07651	1,073767	0,000142	0,023071	32
hsa00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0,071185	1,067887	0,000155	0,023071	45
Снизившие экспрессию					
hsa05032 Morphine addiction	0,041747	-1,06461	0,000138	0,041101	73

Таблица А.20. Результаты статистического анализа дифференциальной экспрессии генов в суббикулуме человека в группе БДР против контрольной группы, используя только гены-ортологи 1:1:1 между человеком, крысой и *Danio rerio*, с использованием Отрицательного Биномиального (Гамма-Пуассон) распределения для определения размеров факторов, дисперсии, создания отрицательных биномиальных обобщенных линейных моделей и статистики Вальда, используя функцию DESeq (Эксперимент 3) [373, 482]. P значение и FDR установлены в 0,05.

Имя	**Норм.ср.**	**Измен.log2**	**Стд. ошиб.**	**stat**	**p**	**p adj**
TRHDE	2464,401	-1,33853	0,250472	-5,34405	9,09E-08	0,000864
VWF	838,6989	0,857176	0,171901	4,986457	6,15E-07	0,002924
APBA2	137,3063	-2,26438	0,479413	-4,72323	2,32E-06	0,005564
ELAVL2	4350,698	-1,01495	0,214962	-4,72156	2,34E-06	0,005564
NEUROD6	4729,525	-1,16977	0,269735	-4,33673	1,45E-05	0,023136
LENG1	16,44758	-5,44315	1,255718	-4,33469	1,46E-05	0,023136
STMN2	23897,14	-0,63013	0,151397	-4,16208	3,15E-05	0,030895
FAM102B	4352,728	-0,62967	0,149692	-4,20645	2,59E-05	0,030895
KIF19	87,06534	1,546379	0,372146	4,155296	3,25E-05	0,030895
PTPRB	2267,339	0,656183	0,157768	4,159176	3,19E-05	0,030895
FABP3	3154,604	-0,86153	0,210791	-4,08714	4,37E-05	0,035749
SUCLG2	725,5435	0,648311	0,159644	4,060975	4,89E-05	0,035749
SLC39A10	8477,13	-0,54222	0,133074	-4,07455	4,61E-05	0,035749
PARP9	704,5983	0,763285	0,190791	4,00064	6,32E-05	0,042911
IFI44	625,3891	0,783843	0,197873	3,961346	7,45E-05	0,047251

Таблица А.21. Результаты статистического анализа дифференциальной экспрессии генов в гиппокампе крыс в группе ХНС против контрольной группы, используя только гены-ортологи 1:1:1 между человеком, крысой и *Danio rerio*, с использованием Отрицательного Биномиального (Гамма-Пуассон) распределения для определения размеров факторов, дисперсии, создания отрицательных биномиальных обобщенных линейных моделей и статистики Вальда, используя функцию DESeq (Эксперимент 3) [373, 482]. P значение и FDR установлены в 0,05.

Имя	**Норм.ср.**	**Измен.log2**	**Стд. ошиб.**	**stat**	**p**	**p adj**
HGF	404,1687	1,895295	0,27399	6,917389	4,6E-12	4,56E-08
FEZF2	894,0668	1,017009	0,160627	6,331481	2,43E-10	1,2E-06

TTC22	397,1618	1,666487	0,311176	5,355447	8,53E-08	0,000282
TP53BP2	5699,253	1,219034	0,234365	5,201431	1,98E-07	0,00049
KCNS1	297,6239	1,432952	0,303183	4,726361	2,29E-06	0,004529
OVOL2	49,41324	4,594552	0,988002	4,650346	3,31E-06	0,005471
HMGCS1	19775,1	0,769573	0,169208	4,548085	5,41E-06	0,007661
PPL	553,8464	-3,68711	0,820857	-4,49179	7,06E-06	0,008745
SLC5A7	297,6599	-2,70201	0,605174	-4,46485	8,01E-06	0,008819
HDC	397,5538	-4,0302	0,913243	-4,41306	1,02E-05	0,010096
USH2A	53,559	-1,8748	0,434595	-4,3139	1,6E-05	0,012222
RSPH10B	857,4857	-1,7044	0,393796	-4,32814	1,5E-05	0,012222
RSPH10B2	857,4857	-1,7044	0,393796	-4,32814	1,5E-05	0,012222
LDLR	1373,883	-0,75762	0,176533	-4,29167	1,77E-05	0,012548
RPE65	171,3564	-1,46829	0,35072	-4,1865	2,83E-05	0,018545
PIK3C2B	910,9034	-0,81143	0,19441	-4,17382	3E-05	0,018545
NADK2	6227,18	0,559755	0,134872	4,15028	3,32E-05	0,01935
FCHO2	3209,427	0,641262	0,155073	4,135236	3,55E-05	0,019514
TCEA2	6189,194	0,658331	0,161734	4,070461	4,69E-05	0,024463
ROBO3	784,5646	-3,0085	0,745855	-4,03363	5,49E-05	0,025907
VAV3	1312,649	-1,86314	0,461333	-4,0386	5,38E-05	0,025907
THRB	2458,737	1,334263	0,334114	3,993437	6,51E-05	0,028515
FAM101B	162,4399	-1,12712	0,282521	-3,98952	6,62E-05	0,028515
CPLX3	292,824	2,440444	0,61704	3,955083	7,65E-05	0,02915
SLC7A11	4068,756	0,536608	0,135153	3,970372	7,18E-05	0,02915
IGFN1	64,61423	2,076292	0,524425	3,959179	7,52E-05	0,02915
VANGL2	360,2331	-1,15621	0,304274	-3,79989	0,000145	0,049447
PHACTR3	10433,5	0,688542	0,180439	3,815924	0,000136	0,049447
MFRP	138,3103	-3,23802	0,851087	-3,80457	0,000142	0,049447

Таблица А.22. Результаты статистического анализа дифференциальной экспрессии генов в целом мозге *Danio rerio* в группе ХНС против контрольной группы, используя только гены-ортологи 1:1:1 между человеком, крысой и *Danio rerio*, с использованием Отрицательного Биномиального (Гамма-Пуассон) распределения для определения размеров факторов, дисперсии, создания отрицательных биномиальных обобщенных линейных моделей и статистики Вальда, используя функцию DESeq (Эксперимент 3) [373, 482]. P значение и FDR установлены в 0,05.

Имя	**Норм.ср.**	**Измен.log2**	**Стд. ошиб.**	**stat**	**p**	**p adj**
CBS	1373,633	-1,12835	0,164931	-6,84132	7,85E-12	4,03E-08
LOC102724560	1373,633	-1,12835	0,164931	-6,84132	7,85E-12	4,03E-08
TAPBP	164,2932	-1,79661	0,317186	-5,66421	1,48E-08	5,06E-05
SOCS3	314,5642	-2,29253	0,435013	-5,27004	1,36E-07	0,000351
CCR9	56,59636	-2,79566	0,554845	-5,03863	4,69E-07	0,000964
MYH4	258,5984	3,323343	0,709557	4,683685	2,82E-06	0,004829
THEMIS	17,14337	-1,83225	0,397957	-4,60414	4,14E-06	0,006085
TTF2	178,6828	-0,68797	0,150573	-4,56902	4,9E-06	0,006299
STAT4	36,67781	-1,59845	0,364297	-4,38778	1,15E-05	0,010946
MYH6	19,15213	-5,21277	1,187409	-4,39004	1,13E-05	0,010946

HMHA1	126,6126	-1,07557	0,245398	-4,38296	1,17E-05	0,010946
IQCE	417,4338	0,839114	0,194836	4,306767	1,66E-05	0,014117
MARCO	219,1724	-2,25995	0,528794	-4,27378	1,92E-05	0,014117
TBC1D10C	46,85412	-1,21312	0,283688	-4,27626	1,9E-05	0,014117
GNGT1	156,3481	-4,61752	1,093479	-4,22278	2,41E-05	0,01551
GMIP	52,35498	-1,07836	0,254683	-4,23413	2,29E-05	0,01551
ELF1	172,8876	-0,74862	0,179926	-4,16072	3,17E-05	0,017064
TAGAP	108,7985	-1,68608	0,404148	-4,17193	3,02E-05	0,017064
C4A	226,9903	-2,21315	0,533233	-4,15043	3,32E-05	0,017064
C4B	226,9903	-2,21315	0,533233	-4,15043	3,32E-05	0,017064
AP1M1	53,98701	-1,23875	0,301151	-4,1134	3,9E-05	0,019093
CEBPD	330,8055	-2,64475	0,646564	-4,09048	4,3E-05	0,019249
CAPG	55,92728	-1,16564	0,284259	-4,10063	4,12E-05	0,019249
SRR	22,26485	1,843807	0,453925	4,061918	4,87E-05	0,020856
C1orf158	34,69932	1,533384	0,378823	4,047754	5,17E-05	0,021272
SOCS1	66,27568	-1,74214	0,434759	-4,00715	6,15E-05	0,023338
LRIT1	29,5476	-1,49938	0,375628	-3,99165	6,56E-05	0,023338
GRN	462,8873	-0,9894	0,246331	-4,01654	5,91E-05	0,023338
BCL10	18,78615	-1,46481	0,367033	-3,99095	6,58E-05	0,023338
RDH5	27,74743	-3,85398	0,973009	-3,96089	7,47E-05	0,023997
RPAP1	260,3229	-0,6462	0,162521	-3,9761	7,01E-05	0,023997
LTB4R	36,54535	-1,56635	0,394873	-3,96671	7,29E-05	0,023997
LCK	21,17211	-1,98351	0,503234	-3,94152	8,1E-05	0,025233
JAKMIP3	1017,44	0,881741	0,225268	3,91419	9,07E-05	0,027437
TMEM129	265,5617	0,490474	0,12581	3,898534	9,68E-05	0,028436
GPR183	21,22254	-1,58352	0,407132	-3,88944	0,0001	0,028702
IL21R	67,83947	-1,30991	0,337564	-3,88048	0,000104	0,028976
INPP5D	120,971	-1,13115	0,294056	-3,84672	0,00012	0,032397
NPM1	438,6385	-0,43264	0,114254	-3,78662	0,000153	0,035353
POLR3E	636,9908	0,723905	0,191083	3,788444	0,000152	0,035353
CDH17	66,11075	4,632365	1,226162	3,777938	0,000158	0,035353
PTPRC	384,383	-1,11542	0,293817	-3,79631	0,000147	0,035353
JAK3	54,23865	-1,23074	0,322407	-3,81736	0,000135	0,035353
INPP5K	46,40485	-2,27796	0,602304	-3,78207	0,000156	0,035353
CNPY2	149,4071	0,724139	0,191647	3,778497	0,000158	0,035353
SAG	41,19081	-4,07355	1,072016	-3,7999	0,000145	0,035353
MTMR1	304,7362	0,633281	0,168459	3,759255	0,00017	0,037289
ZAP70	36,76595	-1,43135	0,381875	-3,74821	0,000178	0,03738
TNIP2	13,41921	-1,84403	0,49148	-3,752	0,000175	0,03738
FOSL1	61,16041	-1,45478	0,391125	-3,71947	0,0002	0,039933
ROR1	41,99598	-1,01654	0,273514	-3,71661	0,000202	0,039933
DHX58	85,19354	-3,31629	0,892052	-3,71759	0,000201	0,039933
CYP1A1	26,7201	3,443234	0,932283	3,693337	0,000221	0,042194
TPD52L2	1790,857	0,378175	0,102645	3,684304	0,000229	0,042194
MAD1L1	138,1593	-0,60458	0,164116	-3,68383	0,00023	0,042194
CRH	571,7543	0,593343	0,160978	3,685869	0,000228	0,042194

NPTX1	5347,391	0,368046	0,100279	3,670221	0,000242	0,043723
CPEB1	55,62308	1,039557	0,285336	3,643278	0,000269	0,046921
DNAJB1	27,47223	-0,87949	0,24121	-3,64614	0,000266	0,046921
PPP1R1C	919,5042	0,932417	0,257008	3,627964	0,000286	0,04816
XAF1	104,8072	-2,12535	0,585671	-3,62892	0,000285	0,04816
SLA	13,72092	-1,86999	0,516322	-3,62176	0,000293	0,048535

Таблица А.23. Результаты статистического мета-анализа Фишера, на основе данных дифференциальной экспрессии генов БДР человека (Таблица А.20), ХНС крысы (Таблица А.21) и ХНС *Danio rerio* (Таблица А.22) против контрольных групп, используя только гены-ортологи 1:1:1 между человеком, крысой и *Danio rerio*, с использованием пакета metaRNASeq R package [373, 377]. P значение и FDR установлены в 0,05. DE(TRUE) - дифференциально экспрессируемый в любом из внутривидовых исследований гены, DE(FALSE) – не обнаруженный как дифференциально экспрессируемый ген, l2fc(+) – гены имеют однонаправленное изменение экспрессии у всех трех видов в экспериментальных группах относительно контрольных групп, l2fc(-) - гены имеют различное изменение экспрессии у разных видов в экспериментальных группах относительно контрольных групп

Имя	**Статистика Фишер**	**P**	**p adj**	**DE**	**L2fc**
CBS	59,74788832	5,06432E-11	1,74753E-07	TRUE	-
LOC102724560	60,83906421	3,0393E-11	1,74753E-07	TRUE	-
HGF	59,87689827	4,7678E-11	1,74753E-07	TRUE	-
TP53BP2	48,8161146	8,11522E-09	2,10022E-05	TRUE	-
FEZF2	48,13837725	1,10873E-08	2,29551E-05	TRUE	+
TAPBP	40,49993901	3,63243E-07	0,000626715	TRUE	-
TTC22	37,22402462	1,59238E-06	0,002354908	TRUE	+
TRHDE	35,82478145	2,98142E-06	0,003857955	TRUE	-
SUCLG2	35,03968139	4,23388E-06	0,004869905	TRUE	+
CCR9	34,57980169	5,19733E-06	0,005380279	TRUE	-
XAF1	33,97108634	6,81444E-06	0,006413004	TRUE	-
SOCS3	33,42120484	8,69955E-06	0,006902547	TRUE	+
PTPN3	33,26228091	9,33497E-06	0,006902547	FALSE	-
PPL	33,3502467	8,97778E-06	0,006902547	TRUE	+
VWF	32,87587228	1,10785E-05	0,007645644	TRUE	+
HMGCS1	32,72868894	1,18244E-05	0,007650407	TRUE	-
MYH4	31,31394572	2,20794E-05	0,01344507	TRUE	+
RPE65	30,92033756	2,62526E-05	0,013588353	TRUE	-
HMHA1	30,92224017	2,62307E-05	0,013588353	TRUE	-
SMARCD2	30,9279381	2,61651E-05	0,013588353	FALSE	-
PARP14	30,24006807	3,53853E-05	0,017443259	FALSE	-
THEMIS	25,36746459	4,24355E-05	0,019967845	TRUE	-
LDLR	29,47665108	4,94155E-05	0,022241283	TRUE	+
SLC5A7	24,6673321	5,86822E-05	0,025311594	TRUE	-
TBC1D10C	24,55151455	6,19107E-05	0,025635979	TRUE	-
TGM2	28,55042073	7,39872E-05	0,027734576	FALSE	+
APBA2	28,06170757	9,14814E-05	0,027734576	TRUE	-
TCEA2	28,12627619	8,89544E-05	0,027734576	TRUE	-
ELAVL2	28,37024832	8,00138E-05	0,027734576	TRUE	-

STMN2	28,46883519	7,66584E-05	0,027734576	TRUE	-
TTF2	28,1297397	8,88208E-05	0,027734576	TRUE	-
ARHGAP25	27,93975327	9,64495E-05	0,027734576	FALSE	-
TRIM54	27,94320845	9,63051E-05	0,027734576	FALSE	-
PIK3C2B	28,25286739	8,41986E-05	0,027734576	TRUE	-
TMEM97	28,32463944	8,16148E-05	0,027734576	FALSE	-
MFRP	24,23969556	7,15065E-05	0,027734576	TRUE	-
THRB	27,78313312	0,000103222	0,028183229	TRUE	-
KIF19	27,77794474	0,000103455	0,028183229	TRUE	-
INPP5D	27,70022303	0,000106996	0,028400566	TRUE	-
GNGT1	23,19002013	0,000116024	0,02901769	TRUE	-
CD53	27,4542457	0,000119012	0,02901769	FALSE	-
USH2A	27,58155305	0,000112635	0,02901769	TRUE	+
OVOL2	27,42486474	0,000120533	0,02901769	TRUE	+
TIFA	27,21628694	0,000131901	0,029465748	FALSE	-
FAN1	27,12419136	0,000137252	0,029465748	FALSE	-
C4A	22,78985784	0,000139473	0,029465748	TRUE	-
C4B	22,78985784	0,000139473	0,029465748	TRUE	-
KCNS1	27,28813898	0,00012787	0,029465748	TRUE	-
JAKMIP3	27,21143796	0,000132178	0,029465748	TRUE	-
FABP3	26,91482584	0,000150226	0,031102701	TRUE	-
TMEM72	26,81720228	0,000156682	0,031803369	FALSE	-
SLC39A10	26,73719811	0,000162177	0,032285644	TRUE	-
CEBPD	26,61426488	0,000170993	0,03277993	TRUE	-
C1QTNF7	26,61459442	0,000170968	0,03277993	FALSE	+
THRA	26,48613238	0,000180685	0,034008192	FALSE	-
IFI44	26,33327138	0,000192959	0,035669832	TRUE	+
MYH6	25,96315727	0,000226188	0,041078997	TRUE	-
MPEG1	25,80573566	0,000241978	0,042492558	FALSE	-
FCHO2	25,79174096	0,000243433	0,042492558	TRUE	+
COLEC12	25,76454024	0,000246286	0,042492558	FALSE	-
FKBP4	25,62893011	0,00026101	0,04429461	FALSE	+
ELF1	25,44852015	0,00028195	0,047076497	TRUE	-
GAPDH	25,33934258	0,000295417	0,048542206	FALSE	-
NEUROD6	25,29831383	0,000300641	0,048576121	TRUE	-
FAM101B	25,26453979	0,000305008	0,048576121	TRUE	-
PDE6B	25,20456039	0,00031292	0,049081062	FALSE	-

Таблица А.24. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов в субикулуме БДР против контрольной группы с использованием генов-ортологов 1:1:1 человека, крыс и *Danio rerio*, с использованием наборов KEGG, обогащение которых оценивалось с использованием нормализованных и лог2-трансформированных подсчетов, при помощи функции общеприменимый анализ обогащения по функциональной принадлежности (GAGE; Эксперимент 3) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Код и имя	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Обогащенные в абсолютном значении					
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	4,53E-07	4,95713	1,95E-17	5,77E-15	190
hsa04512 ECM-receptor interaction	0,003851	2,701489	2,27E-06	0,000336	59
hsa04020 Calcium signaling pathway	0,003799	2,405548	1,85E-05	0,001821	171
hsa04974 Protein digestion and absorption	0,012619	2,266103	5,46E-05	0,003848	60
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0,011982	2,237656	6,5E-05	0,003848	78
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	0,01561	2,143248	0,000108	0,005084	238
hsa04610 Complement and coagulation cascades	0,013341	2,174333	0,00012	0,005084	39
hsa05150 Staphylococcus aureus infection	0,02048	2,128722	0,000239	0,008842	16
hsa04742 Taste transduction	0,025507	1,943042	0,000493	0,014988	36
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	0,026864	1,959298	0,000506	0,014988	22
hsa05033 Nicotine addiction	0,029813	1,845318	0,000932	0,025066	31
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0,040335	1,75408	0,001294	0,031909	71
hsa04950 Maturity onset diabetes of the young	0,043401	1,754742	0,001714	0,039023	17
Снизившие экспрессию					
hsa05010 Alzheimer's disease	0,000337	-3,1049	4,82E-08	1,43E-05	263
hsa05016 Huntington's disease	0,000521	-2,98741	1,5E-07	1,71E-05	216
hsa05012 Parkinson's disease	0,000524	-2,95978	2,05E-07	1,71E-05	176
hsa05014 Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	0,000624	-2,93608	2,32E-07	1,71E-05	241
hsa05020 Prion diseases	0,000478	-2,91884	2,89E-07	1,71E-05	197
hsa00190 Oxidative phosphorylation	0,00215	-2,26604	6,64E-05	0,003277	93
hsa03050 Proteasome	0,016946	-2,14893	0,000142	0,006008	39
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	0,010977	-1,99861	0,000306	0,01132	120
hsa04961 Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	0,021919	-1,80017	0,001225	0,040292	39

Таблица А.25. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов в гиппокампе ХНС крыс против контрольной группы с использованием генов-ортологов 1:1:1 человека, крыс и *Danio rerio*, с использованием наборов KEGG, обогащение которых оценивалось с использованием нормализованных и лог2-трансформированных подсчетов, при помощи функции общеприменимый анализ обогащения по функциональной принадлежности (GAGE; Эксперимент 3) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Код и имя	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Обогащенные в абсолютном значении					
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	4,96E-08	5,383944	5,39E-20	1,59E-17	192
hsa04020 Calcium signaling pathway	3,35E-05	4,022018	3,27E-12	4,82E-10	171
hsa05205 Proteoglycans in cancer	0,003178	2,735122	1,29E-06	0,000127	157
hsa05200 Pathways in cancer	0,003917	2,654317	2,28E-06	0,000161	369
hsa04024 cAMP signaling pathway	0,004133	2,644801	2,73E-06	0,000161	161
hsa04512 ECM-receptor interaction	0,004598	2,647103	3,36E-06	0,000165	58
hsa04916 Melanogenesis	0,005195	2,566598	6,02E-06	0,000254	79

hsa04310 Wnt signaling pathway	0,007975	2,423094	1,57E-05	0,00058	119
hsa05414 Dilated cardiomyopathy	0,008904	2,392839	2,14E-05	0,0007	73
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	0,011949	2,270973	4,69E-05	0,001384	115
hsa04725 Cholinergic synapse	0,011551	2,250127	5,71E-05	0,001418	92
hsa04360 Axon guidance	0,01163	2,232943	6,07E-05	0,001418	145
hsa05217 Basal cell carcinoma	0,01201	2,259081	6,25E-05	0,001418	53
hsa05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0,016679	2,147487	0,000117	0,002472	69
hsa04510 Focal adhesion	0,017245	2,103377	0,000144	0,002782	154
hsa04974 Protein digestion and absorption	0,013719	2,123501	0,000151	0,002782	59
hsa04390 Hippo signaling pathway	0,01789	2,084749	0,000168	0,002917	118
hsa04550 Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	0,018952	2,070649	0,000186	0,003049	106
hsa04925 Aldosterone synthesis and secretion	0,020185	2,045159	0,000226	0,003516	73
hsa04970 Salivary secretion	0,019625	2,013314	0,000302	0,00446	49
hsa05033 Nicotine addiction	0,025544	1,973838	0,000422	0,005931	31
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	0,031389	1,853605	0,000681	0,008866	238
hsa04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0,031241	1,856926	0,000691	0,008866	110
hsa04713 Circadian entrainment	0,030422	1,854979	0,00073	0,00897	68
hsa04742 Taste transduction	0,035699	1,824367	0,000934	0,011021	37
hsa05031 Amphetamine addiction	0,038772	1,774578	0,00121	0,013731	46
hsa04971 Gastric acid secretion	0,042327	1,737823	0,001456	0,01544	49
hsa04015 Rap1 signaling pathway	0,041897	1,72349	0,001465	0,01544	160
hsa05224 Breast cancer	0,040842	1,716937	0,001547	0,015741	115
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0,044372	1,699749	0,001728	0,016996	77
hsa04728 Dopaminergic synapse	0,041237	1,65509	0,002214	0,021072	95
hsa04740 Olfactory transduction	0,04637	1,669576	0,002439	0,021882	23
hsa04911 Insulin secretion	0,051882	1,636751	0,002477	0,021882	56
hsa05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	0,053253	1,62741	0,002591	0,021882	59
hsa05032 Morphine addiction	0,046565	1,62697	0,002596	0,021882	73
hsa04270 Vascular smooth muscle contraction	0,052136	1,619054	0,002688	0,022029	77
hsa04724 Glutamatergic synapse	0,056356	1,556455	0,003683	0,029366	85
hsa05030 Cocaine addiction	0,061718	1,562645	0,003826	0,029704	38
hsa05202 Transcriptional misregulation in cancer	0,062474	1,496723	0,004926	0,03726	114
Повысившие экспрессию					
hsa03010 Ribosome	0,000541	2,842556	1,06E-06	0,000312	93
hsa05140 Leishmaniasis	0,015542	2,173171	0,000114	0,016805	40
hsa05145 Toxoplasmosis	0,01901	2,016395	0,000283	0,027796	66

Таблица А.26. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов в целом мозге ХНС *Danio rerio* против контрольной группы с использованием генов-ортологов 1:1:1 человека, крыс и *Danio rerio*, с использованием наборов KEGG, обогащение которых оценивалось с использованием нормализованных и лог2-трансформированных подсчетов, при помощи функции общеприменимый анализ обогащения по функциональной принадлежности (GAGE; Эксперимент 3) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Код и имя	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Обогащенные в абсолютном значении					
hsa05414 Dilated cardiomyopathy	0,004006	2,641433	1,01E-10	2,19E-08	73
hsa05032 Morphine addiction	0,003268	2,618746	1,7E-10	2,19E-08	73
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	0,005036	2,559949	2,21E-10	2,19E-08	199
hsa05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0,007766	2,429903	2,27E-09	1,69E-07	69
hsa04024 cAMP signaling pathway	0,013014	2,162309	6,92E-08	4,11E-06	164
hsa04020 Calcium signaling pathway	0,017887	2,094285	1,62E-07	6,9E-06	175
hsa04724 Glutamatergic synapse	0,012755	2,115018	1,63E-07	6,9E-06	85
hsa04512 ECM-receptor interaction	0,019121	2,018571	5,42E-07	2,01E-05	60
hsa04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0,023224	1,935474	1,26E-06	3,79E-05	110
hsa04010 MAPK signaling pathway	0,018283	1,928344	1,28E-06	3,79E-05	223
hsa04510 Focal adhesion	0,027651	1,879222	2,29E-06	6,18E-05	156
hsa04742 Taste transduction	0,030154	1,879279	3,21E-06	7,94E-05	37
hsa05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	0,030375	1,852914	3,61E-06	8,25E-05	59
hsa04380 Osteoclast differentiation	0,030327	1,839168	3,94E-06	8,37E-05	83
hsa04727 GABAergic synapse	0,027039	1,839619	4,29E-06	8,5E-05	70
hsa04912 GnRH signaling pathway	0,027123	1,815523	5,74E-06	0,000106	65
hsa04917 Prolactin signaling pathway	0,034688	1,754358	1,1E-05	0,000192	58
hsa05033 Nicotine addiction	0,034844	1,744305	1,53E-05	0,000253	31
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	0,025	1,699717	1,87E-05	0,000292	120
hsa04360 Axon guidance	0,032668	1,686751	1,98E-05	0,000294	145
hsa04713 Circadian entrainment	0,04079	1,670769	2,57E-05	0,000364	69
hsa05146 Amoebiasis	0,048949	1,632643	3,71E-05	0,0005	59
hsa04659 Th17 cell differentiation	0,054352	1,606018	4,76E-05	0,000614	60
hsa04930 Type II diabetes mellitus	0,04567	1,594037	6,25E-05	0,000765	40
hsa04913 Ovarian steroidogenesis	0,056635	1,585977	6,44E-05	0,000765	39
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	0,056157	1,538202	8,82E-05	0,000987	118
hsa04668 TNF signaling pathway	0,059471	1,54041	8,97E-05	0,000987	71
hsa05133 Pertussis	0,042552	1,538207	0,000118	0,001254	43
hsa04725 Cholinergic synapse	0,054533	1,500017	0,000133	0,001364	92
hsa04726 Serotonergic synapse	0,062552	1,49424	0,000141	0,001395	76
hsa04610 Complement and coagulation cascades	0,032983	1,513534	0,00016	0,001535	46
hsa04740 Olfactory transduction	0,059184	1,492518	0,000194	0,001805	24
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	0,078117	1,403228	0,000328	0,00295	50
hsa04933 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	0,075228	1,374358	0,000414	0,003613	71
hsa04728 Dopaminergic synapse	0,068932	1,370059	0,000428	0,00363	95
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	0,074252	1,350229	0,000499	0,004077	107
hsa04923 Regulation of lipolysis in adipocytes	0,078945	1,356623	0,000508	0,004077	45
hsa00604 Glycosphingolipid biosynthesis - ganglio series	0,058034	1,398154	0,000598	0,004676	13
hsa04925 Aldosterone synthesis and secretion	0,071949	1,323342	0,000647	0,004929	75
hsa04260 Cardiac muscle contraction	0,077302	1,321452	0,000683	0,005072	56
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	0,090608	1,30384	0,000878	0,006361	23
hsa04730 Long-term depression	0,083144	1,285332	0,000933	0,006597	42
hsa00230 Purine metabolism	0,090769	1,270444	0,000977	0,006745	105

hsa05321 Inflammatory bowel disease (IBD)	0,094583	1,276452	0,001093	0,007335	23
hsa05162 Measles	0,091061	1,256781	0,001111	0,007335	83
hsa04630 Jak-STAT signaling pathway	0,092048	1,249675	0,00118	0,00762	73
hsa05145 Toxoplasmosis	0,108654	1,214563	0,001538	0,009721	70
hsa05418 Fluid shear stress and atherosclerosis	0,10953	1,190996	0,001831	0,011327	96
hsa04924 Renin secretion	0,104251	1,186261	0,002022	0,012255	44
hsa05030 Cocaine addiction	0,109751	1,177717	0,002165	0,01286	38
hsa04914 Progesterone-mediated oocyte maturation	0,113577	1,106904	0,003509	0,020426	78
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	0,124369	1,104028	0,003576	0,020426	70
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	0,095503	1,096051	0,003718	0,020837	242
hsa04066 HIF-1 signaling pathway	0,137025	1,070691	0,004504	0,024772	78
hsa04015 Rap1 signaling pathway	0,141647	1,058095	0,004839	0,026132	162
hsa04911 Insulin secretion	0,110804	1,059492	0,005043	0,026744	58
hsa05161 Hepatitis B	0,140602	1,050694	0,005133	0,026747	118
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0,151312	1,025071	0,006188	0,031686	71
hsa04974 Protein digestion and absorption	0,124905	1,023798	0,006466	0,03255	63
hsa04371 Apelin signaling pathway	0,141862	1,012356	0,006764	0,033311	100
hsa00250 Alanine, aspartate and glutamate metabolism	0,14214	1,019662	0,006842	0,033311	31
hsa04976 Bile secretion	0,158373	1,001103	0,00737	0,035303	50
hsa05200 Pathways in cancer	0,137308	0,973487	0,008615	0,040611	374
hsa04918 Thyroid hormone synthesis	0,161346	0,969912	0,009092	0,041849	54
hsa04540 Gap junction	0,13844	0,968447	0,009188	0,041849	69
hsa04062 Chemokine signaling pathway	0,130343	0,965753	0,0093	0,041849	115
hsa04931 Insulin resistance	0,122016	0,962011	0,009616	0,042626	84
hsa04620 Toll-like receptor signaling pathway	0,166371	0,957473	0,00982	0,04289	55
hsa05212 Pancreatic cancer	0,150904	0,954291	0,010034	0,043189	66
hsa04660 T cell receptor signaling pathway	0,16839	0,946175	0,01047	0,044421	73
hsa05166 HTLV-I infection	0,172082	0,939943	0,010759	0,045008	158
hsa05221 Acute myeloid leukemia	0,160312	0,932233	0,011668	0,048129	52
Повысившие экспрессию					
hsa00190 Oxidative phosphorylation	3,3E-05	2,024304	1,76E-06	0,000521	93
hsa01200 Carbon metabolism	0,029977	1,475358	0,000179	0,020542	100
hsa00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0,046397	1,46836	0,000207	0,020542	45
Снизившие экспрессию					
hsa04380 Osteoclast differentiation	0,016547	-1,8477	3,95E-06	0,000779	83
hsa04659 Th17 cell differentiation	0,018426	-1,82853	5,24E-06	0,000779	60
hsa05032 Morphine addiction	0,007228	-1,68652	2,48E-05	0,002452	73
hsa04062 Chemokine signaling pathway	0,03853	-1,57102	6,7E-05	0,00417	115
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	0,041076	-1,55303	8,89E-05	0,00417	50
hsa04010 MAPK signaling pathway	0,003573	-1,52863	0,000101	0,00417	223
hsa04724 Glutamatergic synapse	0,01262	-1,54118	0,000106	0,00417	85
hsa05133 Pertussis	0,051107	-1,53122	0,000115	0,00417	43
hsa05168 Herpes simplex infection	0,030878	-1,50251	0,00014	0,00417	90
hsa04064 NF-kappa B signaling pathway	0,053472	-1,49877	0,00014	0,00417	61
hsa05162 Measles	0,030618	-1,47929	0,000174	0,004627	83
hsa04668 TNF signaling pathway	0,033729	-1,47285	0,000187	0,004627	71

hsa04660 T cell receptor signaling pathway	0,058261	-1,38726	0,000376	0,0086	73
hsa05340 Primary immunodeficiency	0,027182	-1,45371	0,000439	0,009304	21
hsa04713 Circadian entrainment	0,037009	-1,34787	0,000561	0,011101	69
hsa04630 Jak-STAT signaling pathway	0,071304	-1,26971	0,001027	0,018005	73
hsa04621 NOD-like receptor signaling pathway	0,070683	-1,26776	0,001031	0,018005	91
hsa00601 Glycosphingolipid biosynthesis - lacto and neolacto series	0,095572	-1,2792	0,001316	0,020753	12
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0,087552	-1,23497	0,001328	0,020753	83
hsa04930 Type II diabetes mellitus	0,036333	-1,22275	0,001783	0,025286	40
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0,065547	-1,20274	0,001788	0,025286	71
hsa05160 Hepatitis C	0,088347	-1,1755	0,002104	0,02841	105
hsa04727 GABAergic synapse	0,055078	-1,14958	0,002666	0,03442	70
hsa05145 Toxoplasmosis	0,093434	-1,14113	0,002782	0,034425	70
hsa05169 Epstein-Barr virus infection	0,074761	-1,12347	0,003128	0,037157	125
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	0,088941	-1,11071	0,003458	0,038429	70
hsa04742 Taste transduction	0,049971	-1,11725	0,003696	0,038429	37
hsa05152 Tuberculosis	0,112139	-1,09832	0,003715	0,038429	90
hsa04020 Calcium signaling pathway	0,011845	-1,09929	0,003752	0,038429	175
hsa04728 Dopaminergic synapse	0,068908	-1,06643	0,004694	0,046472	95
hsa05321 Inflammatory bowel disease (IBD)	0,097972	-1,07618	0,005131	0,048228	23
hsa04360 Axon guidance	0,007494	-1,05135	0,005254	0,048228	145
hsa04725 Cholinergic synapse	0,071482	-1,0474	0,005434	0,048228	92
hsa04622 RIG-I-like receptor signaling pathway	0,108817	-1,05413	0,005521	0,048228	38

Таблица А.27. Результаты статистического мета-анализа Фишера, на основе данных обогащения наборов генов БДР человека (Таблица А.20), ХНС крысы (Таблица А.21) и ХНС *Danio rerio* (Таблица А.22) против контрольных групп, используя только гены-ортологи 1:1:1 между человеком, крысой и *Danio rerio*, с использованием пакета metaRNASeq R package (Эксперимент 3) [373, 377]. P значение и FDR установлены в 0,05.

Код и имя	**Статистика Фишер**	**p**	**p adj**
Обогащенные в абсолютном значении			
hsa04020 Calcium signaling pathway	105,9646	0	0
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	210,1503	0	0
hsa04512 ECM-receptor interaction	80,05214	3,44E-15	3,41E-13
hsa05414 Dilated cardiomyopathy	71,98025	1,6E-13	1,19E-11
hsa04024 cAMP signaling pathway	69,10555	6,24E-13	3,7E-11
hsa05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	63,42645	9,04E-12	4,47E-10
hsa05032 Morphine addiction	58,82909	7,78E-11	3,3E-09
hsa04742 Taste transduction	54,48003	5,9E-10	2,19E-08
hsa05033 Nicotine addiction	51,67058	2,17E-09	7,17E-08
hsa04510 Focal adhesion	48,96895	7,56E-09	2,25E-07
hsa04974 Protein digestion and absorption	47,31149	1,62E-08	4,38E-07
hsa04010 MAPK signaling pathway	46,64594	2,2E-08	5,03E-07
hsa04724 Glutamatergic synapse	46,70773	2,14E-08	5,03E-07
hsa04360 Axon guidance	46,24113	2,65E-08	5,62E-07
hsa05200 Pathways in cancer	45,21253	4,25E-08	8,41E-07

hsa04725 Cholinergic synapse	44,98379	4,72E-08	8,75E-07
hsa04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	44,63607	5,53E-08	9,66E-07
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	43,82068	8,02E-08	1,19E-06
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	44,04572	7,24E-08	1,19E-06
hsa05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	43,8251	8,01E-08	1,19E-06
hsa04610 Complement and coagulation cascades	40,46671	3,69E-07	5,22E-06
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	40,13629	4,28E-07	5,78E-06
hsa04713 Circadian entrainment	39,55435	5,57E-07	7,2E-06
hsa04925 Aldosterone synthesis and secretion	38,77609	7,92E-07	9,8E-06
hsa05205 Proteoglycans in cancer	38,33155	9,68E-07	1,15E-05
hsa04726 Serotonergic synapse	36,98682	1,77E-06	2,02E-05
hsa05146 Amoebiasis	36,56575	2,14E-06	2,35E-05
hsa04380 Osteoclast differentiation	34,17577	6,22E-06	6,25E-05
hsa04727 GABAergic synapse	34,24353	6,04E-06	6,25E-05
hsa05150 Staphylococcus aureus infection	34,14331	6,31E-06	6,25E-05
hsa04912 GnRH signaling pathway	33,79614	7,37E-06	7,06E-05
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	32,36212	1,39E-05	0,000125
hsa04913 Ovarian steroidogenesis	32,42519	1,35E-05	0,000125
hsa04917 Prolactin signaling pathway	32,19343	1,5E-05	0,000131
hsa05030 Cocaine addiction	31,98865	1,64E-05	0,000139
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	31,29279	2,23E-05	0,000181
hsa04916 Melanogenesis	31,2706	2,25E-05	0,000181
hsa04740 Olfactory transduction	31,17152	2,35E-05	0,000184
hsa05031 Amphetamine addiction	30,84206	2,72E-05	0,000207
hsa04668 TNF signaling pathway	30,5511	3,09E-05	0,000224
hsa04728 Dopaminergic synapse	30,6059	3,01E-05	0,000224
hsa04923 Regulation of lipolysis in adipocytes	29,95212	4,01E-05	0,000284
hsa04310 Wnt signaling pathway	29,45822	4,98E-05	0,000344
hsa04390 Hippo signaling pathway	29,00879	6,06E-05	0,000402
hsa05133 Pertussis	28,99786	6,09E-05	0,000402
hsa04015 Rap1 signaling pathway	28,44488	7,75E-05	0,0005
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	28,35024	8,07E-05	0,00051
hsa04933 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	28,28011	8,32E-05	0,000515
hsa04976 Bile secretion	27,56954	0,000113	0,000686
hsa04918 Thyroid hormone synthesis	27,29267	0,000128	0,000758
hsa04550 Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	27,10532	0,000138	0,00079
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	27,11268	0,000138	0,00079
hsa05217 Basal cell carcinoma	27,00294	0,000145	0,00081
hsa04924 Renin secretion	26,58914	0,000173	0,000951
hsa05144 Malaria	26,22524	0,000202	0,001091
hsa04911 Insulin secretion	24,70662	0,000387	0,002052
hsa00830 Retinol metabolism	24,37948	0,000445	0,002317
hsa04930 Type II diabetes mellitus	23,92512	0,000539	0,00276
hsa04970 Salivary secretion	23,70895	0,000591	0,002974
hsa04659 Th17 cell differentiation	23,26234	0,000713	0,00353
hsa04971 Gastric acid secretion	22,77132	0,000877	0,004269

hsa04270 Vascular smooth muscle contraction	22,66911	0,000915	0,004349
hsa05418 Fluid shear stress and atherosclerosis	22,65042	0,000922	0,004349
hsa05224 Breast cancer	22,25349	0,001089	0,005055
hsa04260 Cardiac muscle contraction	22,20347	0,001112	0,005082
hsa04014 Ras signaling pathway	21,78271	0,001326	0,005877
hsa05202 Transcriptional misregulation in cancer	21,78376	0,001325	0,005877
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	21,2982	0,001621	0,007082
hsa04744 Phototransduction	21,22448	0,001672	0,007196
hsa05320 Autoimmune thyroid disease	16,8558	0,002062	0,008747
hsa05204 Chemical carcinogenesis	20,6245	0,002142	0,008962
hsa04750 Inflammatory mediator regulation of TRP channels	20,2076	0,002543	0,010491
hsa00140 Steroid hormone biosynthesis	19,58813	0,003278	0,013154
hsa04371 Apelin signaling pathway	19,59575	0,003267	0,013154
hsa04540 Gap junction	18,5654	0,004964	0,019658
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	18,24778	0,005642	0,022048
hsa04721 Synaptic vesicle cycle	17,63896	0,007201	0,027774
hsa05321 Inflammatory bowel disease (IBD)	17,57169	0,007397	0,028164
hsa04670 Leukocyte transendothelial migration	17,17255	0,00867	0,032513
hsa02010 ABC transporters	17,1471	0,008758	0,032513
hsa04062 Chemokine signaling pathway	16,93558	0,009523	0,034917
hsa04730 Long-term depression	16,34444	0,01202	0,043535
hsa04630 Jak-STAT signaling pathway	16,12578	0,013095	0,046856
hsa05140 Leishmaniasis	16,08239	0,013319	0,04709
hsa05416 Viral myocarditis	15,90752	0,014259	0,049823
Повысившие экспрессию			
hsa05020 Prion diseases	40,08984	4,37E-07	0,00013
hsa05010 Alzheimer's disease	37,1653	1,63E-06	0,000243
hsa04380 Osteoclast differentiation	34,05156	6,57E-06	0,000421
hsa05012 Parkinson's disease	34,48451	5,42E-06	0,000421
hsa05016 Huntington's disease	33,88408	7,08E-06	0,000421
hsa05032 Morphine addiction	32,78478	1,15E-05	0,000571
hsa00190 Oxidative phosphorylation	32,13882	1,53E-05	0,000651
hsa04659 Th17 cell differentiation	31,32877	2,19E-05	0,000655
hsa05014 Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	31,76985	1,81E-05	0,000655
hsa03010 Ribosome	31,31553	2,21E-05	0,000655
hsa04724 Glutamatergic synapse	30,01513	3,9E-05	0,001054
hsa05145 Toxoplasmosis	28,7661	6,74E-05	0,001667
hsa04062 Chemokine signaling pathway	27,44244	0,00012	0,002733
hsa05168 Herpes simplex infection	26,8711	0,000153	0,003248
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	26,30394	0,000195	0,003869
hsa05140 Leishmaniasis	26,10684	0,000213	0,003948
hsa04010 MAPK signaling pathway	25,54392	0,000271	0,004729
hsa04668 TNF signaling pathway	24,85618	0,000363	0,00599
hsa04727 GABAergic synapse	23,84573	0,000558	0,008404
hsa05340 Primary immunodeficiency	23,81023	0,000566	0,008404
hsa05133 Pertussis	23,6611	0,000603	0,008525

hsa04217 Necroptosis	23,28641	0,000706	0,009531
hsa04713 Circadian entrainment	23,10332	0,000763	0,009848
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	22,84493	0,00085	0,01052
hsa04621 NOD-like receptor signaling pathway	22,499	0,000983	0,011676
hsa03050 Proteasome	22,03266	0,001194	0,01267
hsa04064 NF-kappa B signaling pathway	22,05104	0,001185	0,01267
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	22,09824	0,001162	0,01267
hsa05162 Measles	21,25339	0,001652	0,016917
hsa04932 Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	21,09673	0,001763	0,01745
hsa04145 Phagosome	20,89385	0,001917	0,017792
hsa04730 Long-term depression	20,91745	0,001898	0,017792
hsa04660 T cell receptor signaling pathway	20,24601	0,002503	0,021688
hsa04930 Type II diabetes mellitus	20,29055	0,002458	0,021688
hsa05152 Tuberculosis	20,19559	0,002556	0,021688
hsa04014 Ras signaling pathway	19,48371	0,00342	0,028216
hsa04144 Endocytosis	19,21801	0,003811	0,03059
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	19,11158	0,003979	0,031101
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	18,93353	0,004277	0,032574
hsa04725 Cholinergic synapse	18,86304	0,004401	0,03268
hsa04961 Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	18,60404	0,004887	0,035403
hsa04630 Jak-STAT signaling pathway	18,47489	0,005149	0,035563
hsa04726 Serotonergic synapse	18,52047	0,005055	0,035563
hsa04020 Calcium signaling pathway	18,05807	0,006089	0,041099
hsa05167 Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection	17,95853	0,006337	0,041822
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	17,78517	0,006792	0,042026
hsa04620 Toll-like receptor signaling pathway	17,79986	0,006752	0,042026
hsa01521 EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	17,78522	0,006792	0,042026
hsa04662 B cell receptor signaling pathway	17,68912	0,007058	0,042202
hsa04728 Dopaminergic synapse	17,67258	0,007105	0,042202
hsa05169 Epstein-Barr virus infection	17,59996	0,007314	0,042591
hsa05160 Hepatitis C	17,4824	0,007665	0,043777
hsa05200 Pathways in cancer	17,38825	0,007957	0,044592
hsa01200 Carbon metabolism	17,32899	0,008147	0,04481
hsa04612 Antigen processing and presentation	17,08435	0,008978	0,048023
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	17,06292	0,009055	0,048023

Таблица А.28. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов для цельных образцов мозга ХНС *Danio rerio* из максимальных клик, обнаруженных в сети протеин-протеин взаимодействий всех определенных генов-ортологов 1:1:1 человека, крыс и *Danio rerio*, обогащение которых оценивалось с использованием нормализованных и лог2-трансформированных подсчетов, при помощи функции общепримениый анализ обогащения по функциональной принадлежности (GAGE; Эксперимент 4) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе, set.size – размер набора.

Максимальные клики	**p,geomean**	**stat,mean**	**p**	**q**	**set.size**

KCNH1 KCNA4 KCNA2 KCNB1 KCNH5 KCNA5	0,010615784007 2457	3,03555355179 913	3,65324140785854 e-08	0,00024342514311 8951	5
KCNH1 KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNB1 KCNH5	0,010603264724 963	2,70373140653 806	4,04831437084568 e-08	0,00024342514311 8951	6
KCNH1 KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNB1 KCNH5	0,010603264724 963	2,70373140653 806	4,04831437084568 e-08	0,00024342514311 8951	6
KCNH1 KCNA1 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH5	0,014574519083 0216	2,53839141155 662	1,37175791960253 e-07	0,00052295718870 0021	6
KCNH1 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNH5 KCNA5	0,015179503605 7337	2,76262290262 762	1,4495182346583e-07	0,00052295718870 0021	5
KCNH1 KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNH5 KCNA5	0,014131775009 7448	2,67291639777 968	1,84070800620201 e-07	0,00055340886206 4634	5
KCNH1 KCNA1 KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH5	0,014887432234 7224	2,48037829786 819	2,63165818084099 e-07	0,00059431637544 6355	6
STAT5A MAPK1 STAT5B FYN SRC ABL1 STAT3	0,014874120671 6595	2,67289876267 808	2,75615482925788 e-07	0,00059431637544 6355	6
KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNB1 KCNA5	0,013448667607 0157	3,07045983780 521	2,96515736959764 e-07	0,00059431637544 6355	4
KCNA4 KCNA2 KCNH7 KCNB1 KCNA5	0,014126166685 3662	3,26158999274 572	3,39407369419714 e-07	0,00061225695369 6223	4
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNH7 KCNB1	0,014649414689 9095	2,61445980876 338	4,08894187165423 e-07	0,00061467018685 6422	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH7 KCNB1	0,014649414689 9095	2,61445980876 338	4,08894187165423 e-07	0,00061467018685 6422	5
PIK3CA FYN CDC42 SRC KDR CBL	0,016619769196 7684	2,78408858110 51	5,80552754127501 e-07	0,00080558393320 8152	5
KCNA1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA3 KCNB1	0,015961373467 4627	2,53536194623 945	7,13794234021981 e-07	0,00085240488685 63	5
KCNA1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNB2 KCNB1	0,015961373467 4627	2,53536194623 945	7,13794234021981 e-07	0,00085240488685 63	5
FYN CDC42 SRC PXN KDR CBL	0,017301072004 3824	2,74060905071 971	7,560551133489e-07	0,00085240488685 63	5
KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNH7 KCNA5	0,019983560881 734	2,84814719704 06	1,04489707358456 e-06	0,00110875872414 069	4
KCNH1 KCNA1 KCNAB3 KCNA4 KCNA2 KCNH5	0,022798448711 361	2,35712118081 079	1,14063049113595 e-06	0,00114310185720 008	5
KCNA1 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH7	0,020695897895 3667	2,42688821555 607	1,32965908106472 e-06	0,00126240632438 56	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA3 KCNB1	0,023492096120 4341	2,33395676368 973	1,676507152196e-06	0,00144011964373 636	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNH8 KCNB1	0,023492096120 4341	2,33395676368 973	1,676507152196e-06	0,00144011964373 636	5
KCNAB2 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA5	0,023131486500 0845	2,67590408102 833	2,08443285173109 e-06	0,00170914019147 169	4
KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNB1 KCNA5	0,025168221090 5271	2,71318770605 943	2,20413696166026 e-06	0,00172871420223 432	4
KCNA1 KCNAB2 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA3	0,022944306570 7345	2,35461864775 062	2,37562716839077 e-06	0,00174169103995 837	5
KCNAB1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA5	0,019143932854 5855	2,82988932089 346	2,41378546476851 e-06	0,00174169103995 837	4
KCNA1 KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH7	0,020527713624 3906	2,37075831788 289	2,63720650094015 e-06	0,00182971415655 613	5
KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNH7 KCNA5	0,021528894433 682	2,85928828304 505	2,97965297261232 e-06	0,00199073925825 755	4
KCNH1 KCNQ2 KCNQ3 KCNH5	0,026356080516 3466	2,57254337466 567	3,66396757075287 e-06	0,00229240860365 868	4
KCNA1 KCNAB1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA3	0,020965016464 8062	2,33386701272 285	3,6853400690782e-06	0,00229240860365 868	5
KCNA1 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA3	0,030053635774 0991	2,19361614653 757	5,01506456231482 e-06	0,00295390626303 191	5
KCNH1 KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNF1 KCNA3 KCNH5	0,032527206448 4206	2,07550585981 722	5,07628439237148 e-06	0,00295390626303 191	6
KCNH1 KCNA4 KCNA2 KCNF1 KCNH5 KCNA5	0,034179292330 3888	2,18194912566 365	6,5344215410516e-06	0,00368357594309 468	5
KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA5	0,033402232337 7084	2,47304243406 485	7,74437963004967 e-06	0,00423335951958 988	4
SOCS2 STAT5B IGF1R STAT3	0,029274957657 4358	2,51208178222 335	9,59161854894568 e-06	0,00508891785307 15	4

KCNA1 KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA3	0,034024589496647	2,08187010693346	1,02616834734632e-05	0,00515483001431066	5
KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA5	0,034504196142674	2,22410095680588	1,0287370725383e-05	0,00515483001431066	4
FLT4 NOTCH1 SRC FLT1 KDR	0,039023756071 5826	2,28562780708956	1,12792968249653e-05	0,00549911447096076	4
KCNQ2 KCNH7 KCNQ3	0,026888292153 1934	3,19475213848241	1,19307472811536e-05	0,00566365132117709	3
KCNA1 KCNAB3 KCNA4 KCNA2 KCNH7	0,033295916194942	2,23558913752213	1,25616981712963e-05	0,00581026854646191	4
KCNH1 KCNQ5 KCNQ3 KCNH5	0,039893501837 7893	2,30468897224745	1,64498183554723e-05	0,00741845683285913	4
UBC MAPK1 FYN SRC HSP90AA1 ABL1 STAT3	0,036921476841 1045	1,98666874498537	2,07307124663288e-05	0,00912100785805133	6
KCNA1 KCNAB3 KCNA4 KCNH3 KCNA2	0,036221605379724	2,15654782970 19	2,14669957333166e-05	0,00922007466745947	4
FYN EPHB2 SRC EFNA5	0,032492873038 2845	2,32076907660302	2,20396954750826e-05	0,00924590852732594	4
KCNQ2 KCNH3 KCNQ3	0,031405309537 8088	3,13751598367506	2,36254306099602e-05	0,00958620277159428	3
KCNA1 KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNB1	0,037940249104 6978	2,00218936661655	2,44451093460467e-05	0,00958620277159428	5
KCNA1 KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNB1	0,037940249104 6978	2,00218936661655	2,44451093460467e-05	0,00958620277159428	5
SOCS3 STAT1 SOCS2 STAT5B LCK STAT3	0,043820262073 5516	1,89506128202 5	2,8181130679808e-05	0,01081615779432 03	6
MAPK1 FOS MAPK8 FYN SRC ABL1 STAT3	0,040979658855 1673	1,84801141910084	3,18668073298364e-05	0,01197594452964 41	7
KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNB1 KCNA5	0,042458493389 5313	2,18609271562884	3,84372963142148e-05	0,01415041608596 16	4
STAT5B SOCS1 ABL1 STAT3	0,048168229697 7267	2,08139370780372	4,46136145900948e-05	0,01609569987181 44	4
UBC IKBKB RELA PRKCZ SRC	0,040576747676 0771	2,14584636252115	4,69878937767172e-05	0,0166198944282	4
KCNA1 KCNH2 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNA3	0,048275519329 6408	1,86647275989609	5,09228424427164e-05	0,01719504370909 39	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNF1 KCNA3 KCNH7	0,049025125985 1447	1,86775836988257	5,1284255777365e-05	0,01719504370909 39	5
KCNA1 KCNAB3 KCNA4 KCNA2 KCNH8	0,051225592776 7679	1,93318019324074	5,14736049831515e-05	0,01719504370909 39	4
EFNB1 FYN PTPN13 EPHB2 SRC	0,048526498733 8117	1,86173103522595	5,76865856936023e-05	0,01892015126048 9	5
MAPK10 MAPK9 DUSP10 MAP2K7	0,048198930563 4947	2,15463287625437	6,10801193268765e-05	0,01936472272075 35	4
RAC1 MAPK1 MAPK8 FYN SRC ABL1 STAT3	0,044953356388 2213	1,78049325384647	6,12998431530044e-05	0,01936472272075 35	7
SEMA3A NRP1 PLXNA2	0,052755574301 4494	2,24084617085048	6,22944109662385e-05	0,01936472272075 35	3
KCNH1 KCNB2 KCNG3 KCNB1 KCNH5	0,049593018035 8052	2,07547490918402	6,38183869684404e-05	0,01936472272075 35	4
KCNA4 KCNA2 KCNF1 KCNH7 KCNA5	0,051441910308 1128	1,99178026675665	6,44095217720058e-05	0,01936472272075 35	4
MYO9A ITSN1 RHOBTB1	0,048771775966 4266	2,42313087536613	6,64829127324249e-05	0,01966041414393 79	3
KCNH1 KCNG1 KCNB1 KCNH5	0,055560223838 5026	1,93153188889938	7,44127683932862e-05	0,02102819729790 09	4
STAT5A STAT5B FYN PDGFRB SRC ABL1 STAT3	0,047319801612 2053	1,78633191110284	7,49662128851383e-05	0,02102819729790 09	6
UBC MAPK1 FOS FYN SRC ABL1 STAT3	0,053455165890 3192	1,75557289618344	7,4996278005998e-05	0,02102819729790 09	6
KCNH2 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNA5	0,053569142942 3241	1,95500462198846	7,57709864384698e-05	0,02102819729790 09	4
KCNA1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNF1 KCNA3	0,053585613724494	1,79914725921609	8,34394087974703e-05	0,02280550750450 86	5
KCNA1 KCNAB1 KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNA3	0,047929196355 5386	1,82964736618019	9,15850290485112e-05	0,02465824386576 26	5
MAPK1 STAT5B IGF1R PTPN11 SRC STAT3	0,053400990088 4075	1,74722194462787	9,73684236868852e-05	0,02564316680597 79	6

FYN CDC42 SRC PXN ABL1 BCAR1 CBL	0,038462095113 0291	1,82734938251 65	9,90520153094047 e-05	0,02564316680597 79	6
MAPK1 MAPK8 JAK3 LCK STAT3	0,052260152089 1555	1,82235827890 66	0,00010061454106 4959	0,02564316680597 79	5
JAK1 STAT5A TYK2 SOCS3 STAT5B JAK3 STAT6 STAT3	0,059633636364 6649	1,68167949809 889	0,00010133248340 7035	0,02564316680597 79	7
STAT5A SOCS3 JAK2 STAT5B JAK3 STAT6 STAT3	0,058406585101 9009	1,72267503673 599	0,00010258394892 2002	0,02564316680597 79	6
KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNF1 KCNA5	0,056312485082 9004	1,88003479169 317	0,00010377244729 9539	0,02564316680597 79	4
LCP2 GRAP2 ITK FYN ZAP70 CBL	0,056329794664 1182	1,80658617638 99	0,00010813161853 4556	0,02635927387493 05	5
UBC NOTCH1 ARRB1 SRC	0,054493780517 4363	2,23257532903 848	0,00011170892887 7462	0,02651470221079 66	3
AKT1 NOTCH1 ARRB1 SRC	0,054493780517 4363	2,23257532903 848	0,00011170892887 7462	0,02651470221079 66	3
YES1 FYN EPHB2 EFNA5	0,051459410837 4826	2,37257792451 044	0,00011377881462 8378	0,02665527320884 81	3
KCNQ5 KCNH7 KCNQ3	0,053735181632 1546	2,36990462620 463	0,00011930188725 1892	0,02759085569406 25	3
STAT5A SOCS3 JAK2 STAT5B STAT6 SRC STAT3	0,054118716898 3059	1,73441759729 169	0,00012236030801 5654	0,02772055295209 1	6
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNF1 KCNA3	0,064076918191 2282	1,70123701104 759	0,00012293609602 3465	0,02772055295209 1	5
MAPK8 MAPK9 DUSP10 MAP2K7	0,057950502642 3943	1,91587782869 129	0,00013679206972 591	0,03046410056525 55	4
UBC RAC1 MAPK1 FYN SRC ABL1 STAT3	0,059045419601 8439	1,68087895306 192	0,00014473958575 9855	0,03184094375026 86	6
UBC NOTCH1 ITCH ERBB4	0,057540123973 5188	2,25528433632 668	0,00014829207300 7125	0,03191421164016 91	3
KCNQ5 KCNH3 KCNQ3	0,055648660697 5145	2,14766269905 812	0,00014861099716 0275	0,03191421164016 91	3
NCK2 EFNB1 FYN EPHB2 SRC	0,060553511011 3515	1,71373661755 555	0,00015259369145 8531	0,03238397176729 93	5
KCNH1 KCND3 KCNB2 KCNB1 KCNH5	0,056865546412 0165	1,94401444949 145	0,00015813156041 2207	0,03316901416599 77	4
KCNAB1 KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNA5	0,057134128505 2754	1,96329738731 107	0,00017785991761 5551	0,03556136295979 26	4
FLT4 ANGPT2 NOTCH1 FLT1 KDR	0,072027563468 1416	1,73761572371 542	0,00018188491822 9436	0,03556136295979 26	4
KCNH1 KCNB1 KCNH5 KCNS3	0,067729063972 4265	1,75684694568 989	0,00018279699995 8772	0,03556136295979 26	4
EFNB1 FYN SRC EPHA5	0,062762113469 489	2,03281497732 606	0,00018464230446 2477	0,03556136295979 26	3
EFNB1 EPHA6 FYN SRC	0,062762113469 489	2,03281497732 606	0,00018464230446 2477	0,03556136295979 26	3
KCNH1 KCNQ4 KCNQ3 KCNH5	0,067842778641 7247	2,06731044432 695	0,00018571859320 2574	0,03556136295979 26	3
KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNF1 KCNA5	0,069184844538 7379	1,76271601074 376	0,00018678736576 7867	0,03556136295979 26	4
KCNH1 KCNA10 KCNB1 KCNH5	0,066505870093 6904	2,13784534460 859	0,00019122191956 8706	0,03556136295979 26	3
KCNH1 KCNB1 KCNH5 KCND2	0,066505870093 6904	2,13784534460 859	0,00019122191956 8706	0,03556136295979 26	3
KCNH1 KCNV1 KCNB1 KCNH5	0,066505870093 6904	2,13784534460 859	0,00019122191956 8706	0,03556136295979 26	3
KCNH1 KCNB1 KCNH5 KCNG2	0,066505870093 6904	2,13784534460 859	0,00019122191956 8706	0,03556136295979 26	3
RAC1 MAPK1 MAPK8 FYN SRC PXN ABL1	0,051399230006 9138	1,64834196864 766	0,00020140581123 7371	0,03707305539705 04	7
MYO9A RHOBTB1 ARHGEF3	0,062404875029 3838	2,13827001460 911	0,00021096467711 8741	0,03844032131863 61	3
NCAM1 FYN KIT	0,065393402473 8645	2,07521133955 37	0,00021331270881 5389	0,03847947954320 8	3
SOCS3 STAT1 STAT5B PTPN11 JAK3 LCK STAT3	0,071152206484 0302	1,56662497153 599	0,00022496428765 1006	0,03944515630864 68	7
KCNA1 KCNH4 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNB1	0,061108557345 402	1,67759767311 146	0,00022522596040 7485	0,03944515630864 68	5

KCNA1 KCNH4 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNB1	0,061108557345402	1,677597673111146	0,000225225960407485	0,0394451563086468	5
KCNQ2 KCNH8 KCNQ3	0,067198553632 9718	2,26899352378063	0,00023295733482367	0,0404068977200402	3
UBC MAPK1 IGF1R SRC HSP90AA1 STAT3	0,063673620513 9766	1,67778318541969	0,00023992013810 46	0,0412182797263703	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNB1 KCNH6	0,068203272281 0909	1,63392752871746	0,00025691486878 1882	0,0429363129394485	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNB1 KCNH6	0,068203272281 0909	1,63392752871746	0,00025691486878 1882	0,0429363129394485	5
JAK1 TYK2 STAT5B SOCS1 JAK3 STAT6 STAT3	0,071556982570 7676	1,55318386451139	0,00025875093327 4374	0,0429363129394485	7
YES1 EFNB1 FYN PTPN13 EPHB2	0,070833464102 5282	1,708222438820 8	0,00025944110595 9304	0,0429363129394485	4
YES1 ITK FYN ZAP70 CBL	0,070505043959 0707	1,879831011601 74	0,00026294744453 09	0,0431209904717537	4
JAK2 STAT5B SOCS1 JAK3 STAT6 STAT3	0,068969039876 3337	1,586941269762 84	0,00027884183616 516	0,0453155665097596	6
STAT5B SOCS1 FLT3 STAT3	0,072117508826 1811	1,700341199796 45	0,00029621119994 5305	0,0477085163911906	4

Таблица А.29. Результаты статистического мета-анализа Фишера, проведенного на основании данных обогащения наборов генов из максимальных клик для субикулума БДР человека, гиппокампа ХНС крыс и цельных образцов мозга ХНС *Danio rerio*, обнаруженных в сети протеин-протеин взаимодействий всех определенных генов-ортологов 1:1:1 человека, крыс и *Danio rerio*, с использованием пакета metaRNASeq R package (Эксперимент 4) [373, 377]. P значение и FDR установлены в 0,05.

Максимальные клики	**Статистика Фишер**	**p**	**p adj**
WNT7B WNT9A SFRP1 SFRP2	59,6447367516849	5,31458210772939e-11	7,96561679838881e-07
PLCG2 SYK PIK3CG RAC2 PIK3CD	58,243451300239	1,02282959879574e-10	7,96561679838881e-07
NGFR RTN4R MAG LINGO1	57,6892502981525	1,32473254588206e-10	7,96561679838881e-07
AR SMAD3 FOS JUN RUNX2	54,6615955793397	5,42517475388138e-10	2,44661818463165e-06
MYO9B CDC42 RHOC ARHGEF16 RAC2	53,8718863376468	7,82927056519611e-10	2,82464423451145e-06
WNT7B WNT8B SFRP1 SFRP2	53,1209410694568	1,10929954111327e-09	3,33510907035706e-06
COL1A2 ITGA2 COL1A1	52,1095541458008	1,7725763079568e-09	4,56792914560467e-06
CDC42 RHOC RAC2 ARAP3	51,6632542913258	2,17938378455074e-09	4,91423801118884e-06
MYO9B CDC42 RHOC NGEF RAC2	51,2335509995839	2,65869937177143e-09	5,32891977415388e-06
MYO9B ARHGEF16 RHOB RAC2	50,5014421974029	3,72935238246441e-09	6,72737876272755e-06
PLCG1 HCK GAB1 PIK3CG SRC	50,0728209245472	4,54566573271364e-09	7,03411725769265e-06
EGR1 FOS CREBBP JUN RELA SRC	50,0100675076897	4,6792730801215e-09	7,03411725769265e-06
WNT7B WNT9A FZD5 LRP6	48,9691886140849	7,5625704587523e-09	1,04939391158025e-05
GNA15 PLCB3 QRFPR	48,378489464288	9,92724447090865e-09	1,27580680507888e-05
GNA15 PLCB3 HCRTR2	48,234248482658	1,06087377771402e-08	1,27580680507888e-05
ARHGAP36 RHOC ARHGEF16 RAC2	47,6670433568832	1,37715659986881e-08	1,55265799406459e-05
ARHGAP6 RHOC ARHGEF16 RAC2	46,9628629367113	1,90331873595184e-08	2,01964509869619e-05
ARHGAP31 RHOC ARHGEF16 RAC2	46,7819059681436	2,06821235693155e-08	2,07269348370491e-05
ARHGAP11B RHOC ARHGEF16 RAC2	46,4564645967245	2,40137268958662e-08	2,27991378670806e-05
AKT1 EGR1 FOS CREBBP SRC	45,9696859591013	3,00197845470862e-08	2,70763446722444e-05
WNT7B WNT8B FZD5 LRP6	45,7765611803967	3,27979132741518e-08	2,81734075024964e-05
ARHGAP6 RHOC NGEF RAC2	45,1933693502952	4,28386520701096e-08	3,51257474860322e-05
ARHGAP36 RHOC NGEF RAC2	45,0059588803268	4,66747013261326e-08	3,66071711835698e-05
ARHGAP11B RHOC NGEF RAC2	44,7402050610678	5,27076434719831e-08	3,91036419751778e-05
ARHGAP31 RHOC NGEF RAC2	44,6794194659418	5,41931952646735e-08	3,91036419751778e-05
CDC42 RHOC PLEKHG5 RAC2	44,3439989414209	6,31725022293139e-08	4,38295679890228e-05

MYO9B NGEF RHOB RAC2	43,9673705758932	7,50304387509004e-08	5,01286698010183e-05
RARA NR4A1 THRB RXRG NCOR2	43,512229470681	9,23514060779951e-08	5,89779503610583e-05
WNT7B WNT8B FZD10	43,4545190279758	9,48145995049998e-08	5,89779503610583e-05
WNT7B WNT9A FZD10	42,6301386998142	1,38045023412303e-07	8,30064725778179e-05
WNT9A WNT2 WNT2B SFRP1 SFRP2	42,5281744789838	1,44603665930276e-07	8,41453396682663e-05
GNA15 PLCB3 OXTR	42,0033245800622	1,83599371927912e-07	0,000103498408443987
WNT7B WNT8B FZD8 LRP5	41,5107300559899	2,2965657309193e-07	0,000125538634000161
PLCG1 SYK HCK PIK3CG SRC PIK3CD	40,8045590199694	3,16402383626624e-07	0,000167870076418843
RARA THRB NR4A2 RXRG	40,5744413176015	3,5118607411011e-07	0,000181001302596351
CACNG2 GRIA1 PRKACA	40,4037538949973	3,79419806684211e-07	0,000190120941466014
PLCB3 SYNJ1 SYNJ2 PIP5K1C PIK3C2G	40,1838982164188	4,19136938711873e-07	0,000204346249660094
PLCG1 PLCG2 SYK HCK PIK3CG PIK3CD	39,9610584901096	4,63612130463531e-07	0,000220081558458727
WNT7B WNT9B SFRP1 SFRP2	39,7120272500562	5,18886953848607e-07	0,000240005173345514
CDC20 CDK1 CCNF PLK1 CDC6	39,1193713820466	6,78212199622941e-07	0,000305856746724956
RARA CREBBP RXRG NCOR2	38,6363703347645	8,43352891743976e-07	0,000371054702784624
AKT1 RARA ESR1 NR4A1 NCOR2	38,5261816280887	8,8630618599872e-07	0,00038066850688645
RARA EP300 ESR1 NR4A1 NCOR2	38,4698452633776	9,09100132617802e-07	0,000381378076564942
EP300 EGR1 FOS CREBBP JUN RELA	38,3037527279365	9,79749113505513e-07	0,000401674869511953
WNT8B WNT2 WNT2B SFRP1 SFRP2	38,0598816461823	1,09348339427662e-06	0,00043834104331902
ADRA1A GNA15 PLCB3 ADRA1B	37,9617173548793	1,14288510444371e-06	0,000448184878240438
VDR NR4A1 RXRG NCOR2	37,6075036942091	1,34030994947132e-06	0,000514422365500279
GNA15 PLCB3 PIK3C2G	37,1663667782001	1,63415616549756e-06	0,000614136313946051
PPARG NR4A1 RXRG NCOR2	36,7385411518706	1,98006636531467e-06	0,000728947289059415
MAPK14 FOS SYK MAPK11 JUN SRC LYN	36,4011996931694	2,30332885275963e-06	0,000830994983498621
RARA ESR1 NR4A1 THRB NCOR2	36,2382018780934	2,47779772311052e-06	0,000876411629944915
RARA NR4A2 RXRG NR0B2	35,983654566271	2,77686394345444e-06	0,000963304782230283
ARHGDIB CDC42 RHOC RAC2	35,9335542744925	2,83981790860643e-06	0,000966556136855688
MYO9B RHOG ARHGEF16	35,8872654698183	2,89924136054331e-06	0,000968507683385942
PLCG1 JAK2 GAB1 KIT PIK3CG	35,5903384534648	3,31090214045204e-06	0,00108591570384753
WNT7B WNT8A SFRP1 SFRP2	35,3840120572437	3,63063396002783e-06	0,00116219656503117
RHOC ARHGEF16 RAC2 ARHGAP11A	35,3584437613061	3,67233240239351e-06	0,00116219656503117
LPAR1 GNA15 PLCB3	35,3043614278625	3,7621064743476e-06	0,00117007997742684
THRA NR4A2 NR2F1 RXRG	35,0616972401407	4,19249624383777e-06	0,00128183796173881
EP300 EGR1 FOS NFATC2 CREBBP JUN	34,9834836198275	4,34137117955036e-06	0,00130523324513181
WNT9A WNT2 FZD5 WNT2B LRP6	34,9023606932097	4,50132922247271e-06	0,00133113898105222
WNT10A SFRP1 SFRP2	34,671521424046	4,98921832914334e-06	0,00145162111999059
CGN TJP1 TJP2	34,6217578746682	5,10108483853244e-06	0,00145994483648734
VDR NR4A2 RXRG	34,5874333472483	5,17969230751092e-06	0,00145994483648734
WNT9A WNT16 SFRP1 SFRP2	34,5218380467795	5,33327301566189e-06	0,0014801063373773
SYK SOS1 RAC2 PIK3CD	34,3184104104594	5,83889364069723e-06	0,00159587579370511
CDC20 CDK1 CCNF CDK2 CDC6	34,0765819803637	6,50216082154209e-06	0,00175063401581788
WNT7B SFRP5 WNT8B	33,8230719689251	7,27780623099861e-06	0,00193065215589682
RHOC NGEF RAC2 ARHGAP11A	33,755471209642	7,49970662561328e-06	0,0019606841712962
PLCG1 PLCG2 SYK LYN TEC	33,6948698129674	7,70433036734186e-06	0,001985405935664
PLCG1 PLCG2 SYK PIK3CG LYN PIK3CD	33,6224330839694	7,95619502957923e-06	0,00202143383293774
WNT7B WNT9A FZD2 FZD1	33,5765518366586	8,11993356653051e-06	0,00203438168898117

TRHR GNA15 PLCB3	33,4616887894798	8,5446577060555e-06	0,00211146685424021
SYNJ1 PLCD1 PIP5K1C PIK3C2G	33,3642036265086	8,92236207428176e-06	0,00217500661429687
SYNJ1 PIP5K1C PIK3C2G PLCZ1	33,2793756503639	9,26447229399052e-06	0,0022282908761506
PLCB2 SYNJ1 PIP5K1C PIK3C2G	33,2268896816649	9,48263067768185e-06	0,0022507522999303
PLCB1 SYNJ1 PIP5K1C PIK3C2G	33,175705817089	9,70028239066778e-06	0,00227251161097735
PLCB3 SYNJ1 PIK3CG SYNJ2 PIP5K1C PIK3CD	33,0495911814933	1,02579406958681e-05	0,00237234605400979
MYO9B RHOG NGEF	32,922502810152	1,08520593187222e-05	0,00247797845633456
OCLN TJP1 TJP2	32,8830345296683	1,10434201551213e-05	0,00249015320222791
CACNB3 CACNA1C CACNA2D1	32,6071057927806	1,24780173648142e-05	0,00277890068202326
SMAD3 HDAC1 ATF3 JUN	32,4885861450693	1,31495827895289e-05	0,00289274785293064
GNA15 PLCB3 AVPR1A	32,3888890478782	1,37421563475293e-05	0,00297181999437293
PLCB2 ADRA1A GNA15 ADRA1B	32,3730820911471	1,38385098690241e-05	0,00297181999437293
ADRA1A GNA15 PLCB1 ADRA1B	32,3088464542448	1,42370068278996e-05	0,00302142783727625
GNA15 PLCB3 GRPR	32,2255117932349	1,47709839364296e-05	0,0030982997584797
EGR1 MAPK1 FOS MAPK8 JUN SRC	31,9416566788886	1,67432119215771e-05	0,00347161838911873
APC2 JUP CDH1	31,8316872832719	1,75755673432754e-05	0,00360279158301528
CD36 SRC LYN	31,7384324454894	1,8313453144847e-05	0,00371186945258309
CARD11 PDPK1 PRKCQ MAP3K7	31,6898180104563	1,8710209617967e-05	0,00374637536007764
WNT10A FZD5 LRP6	31,66703591263	1,88990607997708e-05	0,00374637536007764
ADRA1A GNA15 PLCB3 ADRA1D	31,6348804376654	1,91688309921778e-05	0,00375854937247713
UBC FOS RB1 JUN RUNX2	31,5666818957685	1,97536805744969e-05	0,00383157681594999
EP300 FOS RB1 JUN RUNX2	31,4987257705381	2,03540342460506e-05	0,00389002299315658
AR FOS RB1 JUN RUNX2	31,4840224499839	2,0486289946775e-05	0,00389002299315658
WNT8B WNT2 FZD5 WNT2B LRP6	31,4341482440488	2,09412812453014e-05	0,00392579539284893
AKT1 PIK3CG RAC2 PIK3CD	31,4159332451564	2,11099369757939e-05	0,00392579539284893
CDC42 PIK3CG RAC2 PIK3CD	31,3109958652498	2,21081104274656e-05	0,0040694714693985
UBC FOS ESR1 JUN RELA SRC	31,1944330846868	2,32717565278318e-05	0,00424039612126825
PTPN6 GAB1 EGFR SRC	31,1309213870114	2,39311241133633e-05	0,0043169354788096
RARA ESR1 THRB NR4A2	30,9882579265557	2,54804726270708e-05	0,00450908968244151
UBC FOS SYK JUN SRC LYN STAT3	30,9803135037291	2,55696127859917e-05	0,00450908968244151
SRF EGR1 FOS CREBBP	30,96465361418	2,57462296852085e-05	0,00450908968244151
KCNH4 KCNQ2 KCNQ1	30,8887290727117	2,66198102600868e-05	0,00461725728155485
GNA15 PLCB3 GHSR	30,8008516636922	2,76676284870492e-05	0,00475329857407505
WNT8B WNT16 SFRP1 SFRP2	30,6470371853405	2,96008938877046e-05	0,00499484520755704
UBC VCL ACTN1 SRC CDH1	30,6449991769593	2,96273871727148e-05	0,00499484520755704
PTPN11 HCK GAB1 PIK3CG SRC	30,6164587968858	3,00008771065841e-05	0,00501097983449694
ARHGDIA CDC42 RHOC RAC2	30,594128560534	3,02963468697959e-05	0,00501390643288301
WNT9A WNT5B SFRP1 SFRP2	30,5082992469776	3,14590950707405e-05	0,00515900559982807
AKT1 RARA ESR1 CREBBP NCOR2	30,3820478557908	3,32502017046377e-05	0,00540360710405368
EP300 PPARG ESR1 NR4A1 NCOR2	30,2376515774028	3,54227707692889e-05	0,00570528001702859
CACNG2 GRIA1 DLG1	30,0528172043179	3,84099446424369e-05	0,00613165479119397
NR4A1 THRA RXRG NCOR2	29,9919081658471	3,94479288149396e-05	0,00624211568326926
PLCD4 SYNJ1 SYNJ2 PIP5K1C PIK3C2G	29,8713832549122	4,15843775797287e-05	0,00652296162748457
GNA15 PLCB3 PROKR2	29,7432709341114	4,39809642140965e-05	0,00683941908153523
FYB SKAP1 LCK	29,3625585293389	5,19394030484843e-05	0,00800799052642401
WNT2 WNT9B WNT2B SFRP1 SFRP2	29,3420171659538	5,2407166497348e-05	0,00801163454614967

WNT7B FZD10 WNT8A	29,2770944891824	5,39131484529332e-05	0,00817259903312993
ARHGEF11 MYO9B RHOC RAC2	29,2130756837912	5,54400726100468e-05	0,00833402891510528
AKAP13 MYO9B RHOC RAC2	29,1450784988904	5,71087537135639e-05	0,00851205231589593
WNT9A WNT5A SFRP1 SFRP2	29,1194012638207	5,7751726671551e-05	0,00851205231589593
WNT7B WNT8B FZD2 FZD1	29,1079831754161	5,80399376270968e-05	0,00851205231589593
PSEN1 CTNND2 CDH1	29,0112510115076	6,05393970932733e-05	0,00880701761423836
ATF2 FOS DUSP10 MAPK13	28,9787295381615	6,14034046386713e-05	0,00886124813021594
PLCG1 SYK HCK PIK3CG SRC CBL	28,9039214363404	6,34374239359969e-05	0,00908212452683689
WNT7B WNT9A FZD8 LRP6	28,8016052239887	6,63276780630273e-05	0,00942114161085787
RARA ESR1 NRIP1 NCOR2	28,6965779415893	6,94299579645508e-05	0,00978474227908227
WNT7B WNT9A SFRP1 FZD6	28,6760626262778	7,00524789388757e-05	0,00979594315952231
SRGAP3 CDC42 RHOC RAC2	28,6404711577778	7,11455952410178e-05	0,00981616644043802
JAK1 PLCG1 INPP5D GAB1 PIK3CG	28,6359573747511	7,1285426226364e-05	0,00981616644043802
PLCG2 RAC2 ERBB2	28,4969001187867	7,57289573065645e-05	0,0103490504610085
ITGA2 ITGB1 COL1A1	28,3358726804886	8,12175769320245e-05	0,0110156681975698
RARA NR4A1 RXRG NR0B2	28,272947363157	8,34676785458344e-05	0,0112112362753675
FN1 ITGA5 ITGB1 COL1A1	28,2609813679027	8,3902483351328e-05	0,0112112362753675
WNT7B FZD5 WNT8A LRP6	28,2059889685213	8,59296908479745e-05	0,0113976889206369
GRAP2 KIT LYN TEC	28,1669648675896	8,73975481037181e-05	0,0115077691258611
VDR CREBBP RXRG NCOR2	28,0520143594651	9,18668746556772e-05	0,0120085982022736
PLCG1 PLCG2 DAPP1 LCK	27,9715650736977	9,51284115033868e-05	0,0123454778065438
GNA15 PLCB3 CCKBR CCKAR	27,9427772607904	9,63231016192223e-05	0,0124112316436368
MYO9B CDC42 ARHGEF16 RHOA RAC2	27,9090397727876	9,77420843949472e-05	0,0125047479461025
PLCG1 INPP5D PIK3C2G	27,8838748780116	9,8813940723641e-05	0,0125528498360124
WNT9A WNT2 SFRP1 WNT3A SFRP2	27,7914902131575	0,000102849446886544	0,0128917167361238
WNT9A WNT2 FZD10 WNT2B	27,778951425619	0,000103409565157975	0,0128917167361238
ITGB7 ITGAE CDH1	27,77413724378	0,000103625418633957	0,0128917167361238
CDC6 MYC KAT2A	27,7115968285336	0,000106470333020581	0,0131549201188922
EGR1 SUMO1 FOS CREBBP JUN	27,6240961397605	0,000110580605941268	0,0135698200719356
PPARG CREBBP RXRG NCOR2	27,5509430976001	0,00011413693052631	0,0139115952011088
EGR1 ATF3 MAPK8 JUN	27,5054371080834	0,000116405959871058	0,0140929336249262
RARA ESR1 NR4A2 NR0B2	27,4411569947162	0,000119687222619458	0,014393585392216
LPAR1 PLCB3 GNAI1 GNAO1	27,4166263737513	0,000120963364271809	0,0144507160801269
MYO9B CDC42 RHOC ARHGEF3 RAC2	27,3900743285181	0,000122359815246997	0,0145213730739512
COL7A1 COL4A1 THBS1	27,3388553271592	0,000125098711169724	0,0147152888466737
PLCG1 PLCG2 SYK BLNK VAV1	27,3291351802324	0,000125625283130315	0,0147152888466737
NR4A1 THRA NR2F1 RXRG	27,3028784522932	0,000127058664552426	0,0147871693539433
AR SMAD3 NR3C1 FOS CREBBP JUN	27,2689282769885	0,000128936008387925	0,0149094657391653
CDC42 RHOC RAC2 TRIO	27,1961811994592	0,000133051439908605	0,0152873562070785
MYO9B RHOBTB1 ARHGEF16	27,1459848996085	0,000135966503748697	0,0155221790995511
WNT7B WNT8B FZD8 LRP6	27,1315542931186	0,000136816147060737	0,0155221790995511
EGR1 MAPK1 FOS MAPK3 JUN	27,0310626219519	0,000142880027751424	0,0161088301287996
KCNH4 KCNV2 KCNC1	26,9956362967551	0,0001450803827312	0,0162553107086218
NCOA6 RARA EP300 ESR1 CREBBP NCOR2	26,9213492425526	0,000149803621229627	0,0166809106380324
CCNF CDK2 FBXW7 CDC6	26,8485672909132	0,000154578309638165	0,0171006247892552
WNT9A WNT4 SFRP1 SFRP2	26,835238574078	0,000155468843363704	0,0171006247892552

EGR2 EP300 CREBBP JUN	26,7755598471288	0,000159518676488779	0,0174397418495823
EP300 FOS JUN RUNX2 STAT3	26,7150994681548	0,000163727725907115	0,0177920749857737
AR FOS JUN RUNX2 STAT3	26,6303641630664	0,000169811770570738	0,0183427217324883
UBC FOS JUN RUNX2 STAT3	26,4445199025761	0,000183947749246682	0,0197513895753625
PLCG1 DAPP1 SRC LYN	26,3699213638104	0,000189943153357852	0,0201806666064622
MAPK14 FOS SYK JUN RELA SRC	26,3669841169678	0,000190183121187348	0,0201806666064622
WNT9A FZD5 WNT16 LRP6	26,3429132291878	0,000192160973871203	0,0202712971208341
UBC FOS SYK JUN RELA SRC STAT3	26,301736681909	0,000195591522860528	0,0205132295400061
MAPK7 FOS ETS1 JUN	26,2617324198458	0,000198982253610147	0,0207482131379968
WNT2 WNT8A WNT2B SFRP1 SFRP2	26,2474281351811	0,000200208696432558	0,020756118821534
CDK1 FZR1 CCNB1 CCNA1 CDC25A PLK1 CDC6 CCNB2	26,2094319940982	0,000203502801849331	0,0209770688146291
FN1 SPARC COL1A1	26,1628111735907	0,000207617757702616	0,0212796405181676
WNT9A SFRP1 WNT7A SFRP2	26,1239122999116	0,000211113873979762	0,0215157241396663
PPARG NR4A2 RXRG NR0B2	26,0821768787099	0,000214929524524177	0,0217815376005147
PLCG1 PLCG2 SYK TEC VAV1	26,004611917084	0,000222202442909603	0,0223927925566834
FOS SP1 JUN MAPK13	25,928212942528	0,000229603184066507	0,0229027534745208
UBC IQGAP1 EGFR CTNNB1 SRC CDH1	25,9190758915583	0,00023050440356942	0,0229027534745208
IQGAP1 CDC42 EGFR CTNNB1 SRC CDH1	25,913343092634	0,000231071629933077	0,0229027534745208
KCNH4 KCNQ2 KCNQ3	25,8721400373913	0,000235189129086932	0,0231834792327824
WNT8B WNT5A SFRP1 SFRP2	25,8107401883403	0,000241459529904176	0,023672219890986
PLCB3 GNA11 QRFPR	25,7667095654351	0,000246057332121463	0,0239925849412923
MAPK14 FOS SYK NFKB1 SRC LYN	25,7480340462725	0,000248033458339014	0,0240552449192338
WNT7B WNT9A WLS	25,713963654031	0,000251678971885938	0,0242650410606448
RARA NR4A2 RXRG RARB	25,7027813265905	0,000252886951571663	0,0242650410606448
CACNA1C RYR2 PRKACA	25,6851479699831	0,000254803433399564	0,0243195721433584
VDR SMAD3 RUNX2	25,5745673198054	0,000267152592773434	0,0253640295844209
VAV2 SYK RHOG SOS1	25,5570806429516	0,000269158725755725	0,0254207029000394
PLCB2 SYNJ1 PIK3CG PIP5K1C PIK3CD	25,5321474360699	0,000272044858848464	0,0255594646289971
SYNJ1 PLCD1 PIK3CG PIP5K1C PIK3CD	25,4983461585815	0,000276006278447483	0,0257972914866018
SYNJ1 PIK3CG PIP5K1C PLCZ1 PIK3CD	25,4366116794924	0,00028338870224176	0,0263507670089645
PLCB1 SYNJ1 PIK3CG PIP5K1C PIK3CD	25,4235578211305	0,000284974480012967	0,0263623315125842
UBC EZR ACTN1 CDH1	25,3770945066954	0,000290690119877035	0,0267538728186828
PLCG1 PLCG2 DAPP1 LYN	25,3460226927976	0,000294575281335918	0,0269267862581376
FN1 THBS1 HRG PLG	25,3382567962664	0,000295554281230181	0,0269267862581376
SOS1 RHOC RAC2 ERBB2	25,2941531545496	0,000301175283263011	0,0273010097225199
PLCG1 PLCG2 PIK3C2G	25,2300995461407	0,000309526991264186	0,0279177869770733
FOS SYK NFKB1 SRC LYN STAT3	25,2018453466345	0,000313283099805939	0,0281159892407927
UBC SMAD2 SMAD3 FOS JUN RUNX2	25,1859102513802	0,000315421280794648	0,0281677449715577
EP300 SMAD2 SMAD3 FOS JUN RUNX2	25,1400598344666	0,000321654055890574	0,0285828448975866
WNT7B FZD8 LRP5 WNT8A	25,0830991270988	0,000329566368529655	0,029142390793659
WNT8B WNT5B SFRP1 SFRP2	25,0046765248861	0,00034077449212655	0,0299864929925407
PTEN AKT1 EGR1 FOS SRC	24,9522295970682	0,000348478870449087	0,0305155841943256
GNA15 PLCB3 LPAR3	24,9140034168003	0,000354202100068091	0,0308669163436149
MTNR1A RGS20 MTNR1B GNAI1 GNAI3	24,8822594583836	0,000359025099553989	0,0310250157379448
MYO9B CDC42 RHOC NET1 RAC2	24,8794432891595	0,000359456083443122	0,0310250157379448
UBC CDK1 JUN SRC LYN	24,8514131831575	0,000363773659174726	0,031248157323109

DOK1 GRB2 KIT LYN TEC	24,7788837113858	0,000375184133624251	0,0320755762390894
WNT9A WNT1 SFRP1 WNT3A SFRP2	24,7371364563319	0,000381910976319899	0,0324966608577107
MAPK14 FOS ESR1 MAPK11 JUN SRC	24,7217792483034	0,000384415289667261	0,0325561850249189
SYK PIK3CG RHOA RAC2	24,6900590709469	0,000389639234875783	0,0328444026071226
WNT7B WNT6 SFRP1 SFRP2	24,6517666841553	0,000396038746026783	0,0332285718119867
UBC MAPK1 FOS ESR1 JUN EGFR SRC	24,5915974228974	0,000406304032684157	0,0338931655776084
MYO9B CDC42 NGEF RHOA RAC2	24,5786669292467	0,000408544028038027	0,0338931655776084
APC2 CDC27 CDH1	24,5726159355246	0,000409596435274606	0,0338931655776084
UBC SMAD3 NR3C1 FOS JUN	24,5525927516604	0,000413097994377387	0,034026825208099
CDK4 CDK1 CCNF CDK2 CDC6	24,5087966796729	0,00042085989647056	0,0345085985110565
PLCD4 SYNJ1 PIK3CG SYNJ2 PIP5K1C PIK3CD	24,4563172830103	0,000430350006616731	0,0351270758794534
UBC FYN PIP5K1C CDH1	24,4336517764708	0,000434513574300355	0,035171274895751
AKT1 RARA ESR1 CREBBP SRC	24,4228141475949	0,000436518394243079	0,035171274895751
WNT8B WNT2 FZD10 WNT2B	24,4166605361965	0,000437660782131366	0,035171274895751
WNT8B FZD5 WNT16 LRP6	24,4111276903893	0,000438690440243028	0,035171274895751
MAPK1 FOS AGT SRC	24,4004600176703	0,000440682420969951	0,0351746468667122
PSEN1 JUP CDH1	24,3711167614825	0,000446207747223704	0,03545877335757
PLCB2 ADRA1A GNA15 ADRA1D	24,3257251984927	0,000454889565787986	0,0359901441984626
ADRA1A GNA15 ADRA1D PLCB1	24,2281851134257	0,000474111947185274	0,0373471852195422
MEF2D MEF2C MAPK13	24,2143415122133	0,000476904123065891	0,0374037977216766
PLCG1 INPP5D PIK3CG LYN PIK3CD	24,1973208541334	0,000480359280207066	0,0375063901213522
WNT7B WNT8B SFRP1 FZD6	24,1874683661122	0,00048237055868694	0,0375063901213522
WNT8B WNT2 SFRP1 WNT3A SFRP2	24,1446413321166	0,000491209964211037	0,0380297705768365
WNT9A WNT2 FZD2 FZD1 WNT2B	24,111838933834	0,000498087921181556	0,0383974701290346
PLCG2 SYK RAC2 PIK3CB	24,0290637856459	0,000515868155232524	0,0395989176691043
ESR1 THRA NR4A2 NR2F1	24,0032285839404	0,00052154439437313	0,039771942552891
PLXNA4 RRAS RND1	23,9987628937434	0,000522531758137101	0,039771942552891
MYO9B ECT2 CDC42 RHOC RAC2	23,955082519155	0,000532286965767459	0,0403442209053748
CDC42 EGFR CTNNB1 SRC MET CDH1	23,9198051059592	0,000540296112324201	0,0407799228879342
UBC EGFR CTNNB1 SRC MET CDH1	23,9081915699752	0,000542958617937628	0,0408101271207369
MYO9B ARHGEF3 RHOB RAC2	23,8776703043115	0,000550017570168371	0,0411691574616898
CDC42 RHOC ARHGAP15 RAC2	23,867750979606	0,000552331086899782	0,041171489572666
LCP2 PLCG1 PLCG2 SYK LYN	23,827695469066	0,000561771125249133	0,0417028367422597
SOCS3 MAPK11 SRC	23,8084877808187	0,000566353992628499	0,0418707363648586
NMUR2 GNA15 PLCB3	23,711408409532	0,000590085190311451	0,0434471295837889
WNT8B WNT4 SFRP1 SFRP2	23,63497545745	0,00060945493298592	0,0446908842932236
ESR2 FOS ESR1 MAPK11 SRC	23,5924406984273	0,000620503509955461	0,0453168535064233
PRKD1 PKD1 CDH1	23,5807092499191	0,00062358529369777	0,0453367057387823
PLCG1 SYK PIK3CG SRC LYN CBL	23,5723066259536	0,000625801858692654	0,0453367057387823
MED1 RARA ESR1 NR4A1 THRB	23,5386900468358	0,000634747471650265	0,0458008385643966
PLCG1 JAK2 GAB1 PIK3CG SRC	23,5199902318251	0,000639777918882145	0,0459798959311355
CDK1 FZR1 CCNB1 CCNA1 CDC25A CDK2 CDC6 CCNB2	23,5080997030554	0,000642996958465925	0,0460278656101858
MYO9B RHOBTB1 NGEF	23,4951082998976	0,000646532232910335	0,0460460230405902
PRKACG ADCY9 GNAO1 PRKACA	23,4884344289825	0,000648355776501464	0,0460460230405902
PLCB3 GNA14 QRFPR	23,4279803202563	0,000665106038667873	0,0470503836530579
NCOA6 RARA ESR1 CREBBP SRC	23,4106027445947	0,000669999127376419	0,0472113838232157

WNT9A FZD10 WNT16	23,2917394153463	0,000704429824918473	0,0494443953762815

Таблица А.30. Результаты статистического анализа обогащения наборов генов в целом с использованием набора генов, состоящего из 253 генов-ортологов, предложенных в данной работе на основании анализа максимальных клик в сети про теин-протеин взаимодействий, экспрессия которых была обогащена в мета-анализе Фишера с использованием данных генов-ортологов человека, крысы и *Danio rerio* (Эксперимент 4) [311, 373]. P значение и FDR установлены в 0,05. p.geomean – геометрическое среднее индивидуальных p-значений для образца в экспериментальной группе, stat.mean – среднее статистического показателя для образца в экспериментальной группе set.size – размер набора.

	p.geomean	**stat.mean**	**p**	**q**	**set.size**
Цельный мозг *Danio rerio*					
Стресс - ХНС	0,0158350100655709	2,11001541435221	1,30103998855426e-07	1,30103998855426e-07	225
Флуоксетин - Контроль	0,0289336645708696	1,85760441987371	2,8526272304413e-06	2,8526272304413e-06	231
Флуоксетин - ХНС	0,198908481814815	0,803149224907988	0,0247120154155718	0,0247120154155718	225
БДР человек - Контроль					
Гиппокамп	1,75184095561863e-10	6,41840434724109	1,16588704029555e-27	1,16588704029555e-27	224
Префронтальная кора	0,000506647782182357	3,23210250919084	6,86491091131674e-11	6,86491091131674e-11	245
Гиппокамп крыс					
ХНС - Контроль	0,000100320850914349	3,71032421694908	9,77483087800069e-11	9,77483087800069e-11	220
Флуоксетин - Контроль	0,00248702361905806	2,70663534545235	1,57116830988579e-06	1,57116830988579e-06	242
Флуоксетин - ХНС	0,000376851964266212	3,28687154021419	8,38127501663008e-09	8,38127501663008e-09	220

SAINT PETERSBURG STATE UNIVERSITY

Manuscript

Konstantin A. Demin

Neuroscience foundations of stress-induced affective pathogenesis in zebrafish and its translational relationship with affective pathogenesis in rats and humans

Scientific specialty 1.5.24. Neuroscience

Thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences

Translation from Russian

Supervisor:

Doctor of science,

Alan V. Kaluev

Saint-Petersburg – 2022

Contents

Introduction 211

Chronic stress as a model of affective pathologies 211

The neurochemical effects of chronic stress 212

Transcriptome Changes in Chronic Stress 213

Behavioral Effects of Chronic Stress 214

Behavioral despair 215

Zebrafish (*Danio rerio*) 216

Chapter 1 Development of a test to determine the behavioral despair in zebrafish 224

1.1 Methods, animals, and equipment 224

1.2 Results 233

1.3 Discussion 239

Chapter 2 Behavioral, molecular and neurochemical effects of chronic unpredictable stress in zebrafish 246

2.1 Methods, animals, and equipment 246

2.2 Results 260

2.3 Discussion 270

Chapter 3 Translational analysis of brain transcriptome in affective pathogenesis in zebrafish, rats, and humans 277

3.1 Methods, animals, and equipment 277

3.2 Results 288

3.3 Discussion 301

Conclusion 308

Findings 312

Acknowledgments 314

References 316

Appendix A. Statistical and methodological tables 344

Introduction

Chronic stress as a model of affective pathologies

Stress, being the body's natural response to various external and internal stimuli, is a key adaptive mechanism that aimed to restore the body's homeostasis and select the optimal behavioral strategy for responding to stimuli (stressors). The result of stressor exposure is a short-term activation of complex neuroendocrine mechanisms, which, under good conditions, leads to adaptation to those changing environmental conditions [1, 2]. However, if the intensity of stressors exceeds the adaptive capabilities of the body, a distortion of the normal function of the systems involved in the stress response may occur [3, 4]. These disorders associated with pathologies of the neuroendocrine, immune, and other systems (for example, excessive activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, high concentrations of cortisol in the blood, increased expression of inflammatory cytokines, etc. [5-9]), are closely related to many affective and anxiety disorders, including major depressive disorder (MDD; depression), panic disorder, post-traumatic stress disorder, and other pathologies [4, 10-12].

Widespread and difficult to treat, stress-related psychiatric disorders represent one of the tough unresolved problems in translational biomedicine [13-15]. The main reason for the lack of effective methods of treating these pathologies is a poor understanding of the specific mechanisms underlying their pathogenesis [16, 17]. Experimental (animal) models are widely used to study the pathological mechanisms of stress-related disorders [18-20]. One of the most common approaches to modeling affective and anxiety disorders are rodent models based on the paradigm of chronic unpredictable stress (CUS) [21-26]. CUS protocol usually consists of a presentation of various (to prevent habituation) stressors to mice or rats for several weeks [23, 25, 27-29]. After continuous modeling, the animal develops a distinctive behavioral phenotype that is associated with anxiety and depression-like state [30-32]. Moreover, the biochemical and physiological changes observed in this model closely resemble the specific changes observed in clinical studies of patients with affective disorders [33].

The neurochemical effects of chronic stress

Despite a large amount of research in this area, the specific role of monoaminergic systems in the pathogenesis of affective disorders and other chronic stress-related pathologies remains the subject of discussion. Decreased levels of serotonin and their metabolites, as well as altered expression profiles of the serotonin transporter and serotonin receptors in the brains of depressed suicidal patients [34-36], as well as in animal models, served as the basis for the formulation of the so-called serotonin theory of depression, in which the main pathological role is attributed to a deficiency in serotonergic transmission. Interestingly, in our time, this theory is not considered as fully describing the mechanisms of the development of the disease, but most of the known effective drugs for the treatment of depression affect the serotonergic system, for example, through selective inhibition of serotonin reuptake (SSRI). Thus, it is generally accepted that the impairment of serotonergic function is an important factor in the development of the pathogenesis of affective disorders. In rodent models, CUS leads to a decrease in serotonin concentration in whole brain samples, which may be associated with an increase in the activity of monoamine oxidase-a (MAO-A) [37], while the state of the serotonergic system in specific parts of the brain may differ. Most studies indicate a decrease in serotonin levels and/or serotonin turnover (expressed in terms of the ratio of serotonin to its metabolite 5-hydroxyindoleacetic acid concentrations) in the prefrontal cortex [37-41], hippocampus [39, 42-45], and raphe nuclei [46, 47]. At the same time, other studies show no effect on the serotonergic system in these areas of the brain [48-52], and one study showed an increase in serotonin turnover in the hippocampus [48]. Similarly, some studies indicate a decrease in serotonin levels and serotonin turnover in the hypothalamus and striatum [39, 43, 45, 47], while other studies have found no changes in these areas of the brain [43, 48, 49, 53, 54]. In the case of the amygdala, most studies have found no changes in the serotonergic system [51, 55], and only one study found an increase in serotonin turnover [56]. The presence of such variability in the results complicates strict conclusions about the role of monoamines in chronic stress-induced pathologies.

Transcriptome Changes in Chronic Stress

Rodent CUS is also widely used to study stress-induced changes in gene expression, especially in the brain. Much of this research focuses on the individual determination of gene expression that has already been described as associated with stress and affective pathologies (for example, using quantitative polymerase chain reaction (PCR)). At the same time, the identification of novel pathways and targets for the treatment of these disorders can be undertaken by analyzing the complete transcriptome of the animal.

Most transcriptome studies have not found changes directly related to monoamine neurotransmitters. Despite this, exposure to fluoxetine with typical SSRIs leads to a pronounced restoration of the gene expression profile in rodents exposed to CUS [57, 58]. However, the restoration of the behavioral phenotype does not necessarily lead to the total normalization of the transcriptome to the level of the control group. For example, with CUS lasting 7 weeks in mice, fluoxetine restored the expression of 75% of genes in the cerebral cortex and only 28% of genes in the dentate gyrus [57]. Moreover, the action of fluoxetine led to a greater change in the transcriptome than the CUS, which may be assessed in an increase in the number of genes that changed their expression relative to the control group [57]. In this study, CUS resulted in decreased expression of glutamate receptor subunits (*Grin2a*, *Grin2b*, *Grin2c*, *Grin3a*, *Gria4*, and *Grm3-8*) in the cerebral cortex and amygdala [57]. At the same time, 5-week-long CUS in mice led to an increase in the expression of the glutamate transporter genes *Vglut1* and *Vglut2* in the hippocampus [59], and *Slc17a6* and *Slc17a8* (other genes for glutamate transporters) increased and decreased expression, respectively, in young mice subjected to CUS [60]. Subunits of the $GABA_A$ receptor also change their expression as a result of exposure to CUS. *Gabra2* decreases its expression in the amygdala of the mouse after 7 weeks of CUS, while exposure to fluoxetine restores its expression [57], *Gabra4* also decreases its expression in the hippocampus of mice after 3 weeks of CUS [61]. Some studies also note that CUS influenced genes associated with growth factors

such as *Bdnf* in the suture nuclei [62], *Igf-2* [63], as well as genes involved in the neuronal signaling *Ffg*, *Ngf*, *Vegf*, and *Egf* [64], and *Igf-1* in the amygdala [57].

The expression of genes associated with calcium signaling is also impaired as a result of CUS. Expression of *Crebbp*, a regulator of transcriptional responses to calcium in the cytoplasm, was decreased in the mouse hippocampus after 3 weeks of CUS, and the expression of *Cacnb1*, *Cacn2ad1*, and calcium-transport ATPases was also impaired [61]. In 7-week CUS, the expression of *Cacnb2* in the amygdala and *Cacn1a1* in the dentate gyrus was reduced, while the effect was reversible after fluoxetine treatment [57]. Also, *Creb3l3* expression was increased in mice after CUS [60]. In general, summarizing the current data can be said that the effects on gene expression in the brain strongly depend on the chosen animal strain and stress model, and the existing data are often very difficult to reproduce between studies.

Behavioral Effects of Chronic Stress

One of the most pronounced effects of CUS is the development of an anxiety-like phenotype. In rodents, this phenotype can be determined on a wide variety of tests, including the open field test, the elevated plus-maze test, and the light-dark box test [26, 65-67]. In these novelty stress tests, rodents exposed to CUS show a distinct decrease in exploratory activity (pronounced thigmotaxis, decreased mobility, preference for dark places), which is also associated with anxiety and increased emotional reactivity [31, 68, 69].

The social behavior of animals and humans is also subject to pathological changes as a result of chronic stress. Thus, impaired social behavior is a well-studied trait of patients with various mental disorders caused by stress [70, 71]. That is why many studies have focused on investigating the mechanisms of interaction between social behavior and stress [72-74]. Rodent studies of CUS have shown a link between chronic stress pathology and pathologies of social behavior [32, 75]. Moreover, social isolation and other disturbances in the natural state of social activity were found to act as severe stressors themselves, suggesting a strong bi-directional relationship between stress and social behavior.

At the same time, rodents have complex social behaviors, and their precise definition and assessment remain a difficult task.

Behavioral despair

Representing the main manifestation of both clinical and experimental (animal) depression, the behavioral despair is modeled in various paradigms, closely related to the models of "learned helplessness" in which animals are exposed to unavoidable stressors [26, 76-78]. Based on this paradigm, traditional rodent despair tests such as the Porsolt Forced Swimming Test (FST) [79-81] and Steru Tail Suspension Test (TST) [82-84], have long been used as tests to determine antidepressant activity [85, 86]. Despite the conceptual and practical limitations of these tests [87-89], they allow to quickly identify antidepressants [90] and for this reason, they are widely used as an antidepressant drug screening tool and to determine the psychopharmacological profile of CNS drugs [23, 91, 92]. Most importantly, they provide the ability to separate anxiolytic and antidepressant drugs, the effects of which may often overlap in other tests, such as the open field test, since many antidepressants also have significant anxiolytic effects [93, 94].

In the FST, the animal is placed in a cylindrical jar filled with water, in which it makes active attempts to get out, alternating with episodes of immobility (which are associated with the phenomenon of despair) [79, 95]. Classical antidepressants of the monoaminergic spectrum usually reduce immobility and stimulate active avoidance activity in this test [96-98]. The Porsolt forced swim test has been noticeably optimized in recent years, including procedures for manipulating animals, water levels, and how behavior is assessed (e.g. time intervals, immobility, climbing a wall) [97, 99, 100]. The test is particularly sensitive to the effects of selective serotonin reuptake inhibitors, tricyclic antidepressants, monoamine oxidase inhibitors, and some catecholaminergic drugs [79, 97, 101].

TST is another, conceptually similar (but less physically challenging) test for studying “despair” behavior and searching for new drugs with antidepressant activity [102]. In this test, rodents are suspended in the air by their tail and, in this position, perform active oscillatory movements, body

bending and twitching aimed at trying to escape and, as in the case of FST, these episodes of activity are interrupted by episodes of immobility, which are associated with behavioral despair [102]. Despite the conceptual similarity, FST is less dependent on motor activity, is less time-consuming, and also does not cause hypothermia in the animal as a result of exposure to water [103]. Although these tests differ in the baseline activity of different animal lines in the test (some lines are more active in one test, others in another), as well as their sensitivity to some pharmacological drugs [103], both tests are sensitive to the action of antidepressants, some psychostimulants [103], genetic manipulation, as well as acute and chronic stress exposure [25, 26, 104-106] and at the same time are not sensitive to the effects of anxiolytic drugs without antidepressant effect (for example, benzodiazepines) [79, 103]. Despite the undeniable value of using despair tests in translational biological psychiatry [107, 108], their use is gradually declining due to the high cost of preclinical research, as well as increasing ethical requirements for stress research in animals [109-113].

Widely used as tests to determine the antidepressant activity of substances [86, 105], these tests have also found application as tools for assessing anxiety-like behavior and behavior associated with affective pathology in models of chronic stress. Many studies using the CUS model or similar models have shown that chronic stress causes an increase in the time of immobility and a decrease in the latency period before the first episode of immobility in the FST [114-117] and TST [118, 119]. It is also important to note that these effects were removed or even reversed after exposure to antidepressants, but not anxiolytics [117, 120]. Thus, these behavioral changes are thought to be associated with depression-like behavior in the animal. At the same time, it is important to pay attention to the fact that in some studies it is not possible to reproduce the effects of CUS on the behavior of "despair" [121, 122], which makes it difficult to draw direct conclusions about the relationship between stress and despair behavior.

Zebrafish (*Danio rerio*)

Despite the proven effectiveness of rodent models in reproducing many behavioral, molecular and physiological symptoms of affective disorders, these models have significant drawbacks, among

which the most pronounced is the practical complexity of setting up experiments that are demanding in labor, space, economic investment, as well as time and often difficult to reproduce and difficult to translate into clinical conditions [28, 123]. Due to these difficulties, the use of *Danio rerio* (*zebrafish*, also *зебраданио* is used in Russian *[124, 125]*) as a model object in neuroscience, genetic, pharmacological, and other translational biomedical research [126-128]. Such an increase in the popularity of the model organism in these areas is associated with several key advantages over other, historically more widely used organisms, such as the relative cheapness of use, simplicity of pharmacological, genetic, and behavioral manipulations, small size, rapid reproduction and transparency of embryos [129]. These qualities of an organism have long been widely recognized in other research areas, such as embryology [130, 131], genetics [132, 133], and oncology [134-136]. The translational benefit of *Danio rerio* is also due to its high genetic homology to humans [137, 138], as well as the presence of evolutionarily conservative basic neurotransmitter systems [139, 140] and high, easily translated similarity of the anatomical and histological structures of the central nervous system [141, 142].

In recent years, the use of *Danio rerio* as a model has been expanded to investigate the effects of stress on the body [128, 143-145]. Stress models and tests on zebrafish are rapidly gaining popularity due to their low cost, ease of manipulation, and reduced ethical burden, due to the use of a simpler, from a neurobiological point of view, organism [146-149]. In addition to the main benefits of using *Danio rerio*, their stress responses are highly conservative to other vertebrates [150]. Moreover, the existence of cortisol in *Danio rerio* as the main glucocorticoid [151], in contrast to rodents, which use corticosterone, make this model especially suitable for translational studies of the molecular mechanisms of pathological conditions caused by stress in humans. Based on these facts, as well as the high potential of the body for a high-performance search for potential drugs [152, 153], the CUS model has been successfully adapted for use in *Danio rerio* [154-158].

Due to the pronounced preservation of behavioral patterns between different species of vertebrates, many well-studied behavioral effects of CUS are observed in both rodents and zebrafish [159-161]. Similar to rodents, in *Danio rerio* novelty tests, such as the novel tank test (NTT), are used to assess anxiety [143, 160, 162]. It has been shown that *Danio rerio* subjected to CUS show a decrease in exploratory activity in behavioral tests [157, 158, 163, 164]. Since similar behavioral disturbances are observed when *Danio rerio* is exposed to other stressors, including pharmacological drugs with anxiogenic effect [165, 166], as well as the reversibility of these changes with anxiolytic drugs and antidepressants [162, 167, 168], decreased exploratory activity *Danio rerio* in tests for the novelty exposure is considered a sign of anxiety behavior, while increased activity is considered an anxiolytic effect. Other successfully adapted tests that measure animal anxiety include the Light-Dark test [169]. This test is based on natural avoidance of illuminated areas in zebrafish (similar to rodents) and, as has been shown, CUS [164], as well as anxiogenic drugs [170], increase the preference for dark areas in this test.

Danio rerio is also a highly social organism with a relatively simple nervous system, which is expressed in the presence of simple and easily identifiable behavioral social parameters based on the tendency of a given model organism to build shoals (shoaling behavior) [171]. This behavior is also closely related to foraging, predator avoidance, and fear response [172]. Assessment of parameters such as shoal presence, the distance between fish in a shoal, and the number of fish in a shoal are useful tools for studying *Danio rerio* social behavior. At the same time, the effects of CUS on shoaling behavior differ across studies [158, 164] and are possibly related to the duration of the protocol. Thus, the effects of CUS on zebrafish social behavior remain poorly understood. One of the potentially effective mechanisms for studying the effects of CUS in social behavior can be the study of this phenotype in the dynamics of modeling, to obtain a more detailed picture of the development of effects.

Modern *Danio rerio* behavioral tests usually use avoidable stressors to assess their behavior. For example, the most common tests are the novel tank test and the dark-light test, both of which use the

concept of novelty, studying the animals' avoidance of potentially dangerous, unfamiliar places - the top or lightened part of the aquarium, respectively [173-175]. Thus, a test that examines a behavioral response to a stressor that is not avoidable (like the paradigms associated with "learned helplessness" and "despair" in rodents) could help investigate changes in behavior that are not directly related to the classical novelty-based tests [176-180]. For example, immobilization or restriction of mobility causes severe, unavoidable stress in *Danio rerio* and rodents [158, 181, 182]. However, the use of such stressors is limited by the strong nature of the physical impact (imposing ethical restrictions on the use of the stressor) and the difficulties in directly assessing the behavior of a completely immobilized animal during exposure to the stressor. Despite the growing interest in research on psychoactive drugs for zebrafish [128, 183-186], a test similar to the rodent despair tests did not exist before this work, which made it difficult to identify antidepressant drugs in the model

Recognizing the growing use of *Danio rerio* in the context of translational studies of CNS disorders [128, 161, 187], as well as research into the effects of psychoactive drugs, including antidepressants [183, 185, 186, 188-190], **Chapter 1** of this work is devoted to the development of a new test to determine the behavioral despair in *Danio rerio* [191], called the zebrafish tail immobilization test. The test was validated on several antidepressant drugs, anxiolytic drug, and acute stress effects, and the reproducibility of the test was verified under experimental conditions. Studied neurochemical changes occurring in the brain zebrafish in response to testing, as well as the mechanisms responsible for the increase or decrease of activity in the test. The conceptual relationship between the proposed test and rodent tests is considered, and further points for studying the fundamental foundations of this phenotype are outlined. This test, being an analogue of the rodent test, can also be used by analogy to study the effect of CUS on this behavioral axis.

In **Chapter 2** of this thesis, two methods were used to address the variability of findings in translational research on mental disorders [192]. First, the effects of CUS on behavior, levels of monoamines, and their metabolites were studied over time, examining the phenotypes every week. This

approach allows one to study the dynamics of pathogenesis by observing several time slices, thereby partially solving the problem of variability observed in rodent studies. Secondly, the *Danio rerio* was chosen here for the study, as a model organism with a relatively simple nervous system, a simple behavioral repertoire, and evolutionarily distant from humans, but at the same time a vertebrate organism with the same CNS structures observed in humans and rodents [141, 142, 161]. The use of zebrafish in this work can be effective for in-depth study of the complex changes in transcriptome observed in rodent studies, providing an evolutionary perspective and allowing to determine the most evolutionarily conservative effects of chronic stress on gene expression in vertebrates.

Chapter 3 of the thesis attempts to translate the transcriptome data obtained in Chapter 2 to identify evolutionarily conservative features of stress-related pathogenesis in vertebrates [193]. At the moment, data from many animal models remain difficult to reproduce in humans, which leads to the need to develop novel methods for experimental translation of results to clinical data. Chapter 3 aims to identify the key traits responsible for the pathogenesis of affective disorders using an important for neuroscience interspecies approach [194, 195]. This chapter analyzes interspecies transcriptome data from the brain of zebrafish, rats, and humans to identify new common molecular targets and biomarkers responsible for the pathogenesis of stress-induced disorders. The use of three important model organisms simultaneously, revealing the interspecies patterns of pathogenesis, can be an effective approach for studying such complex heterogeneous diseases as affective disorders.

Based on the above, **the scientific aim of the thesis was to study stress-induced affective pathogenesis in *Danio rerio* and to carry out translational analysis of interspecies patterns of brain gene expression in affective pathogenesis in humans, rats, and zebrafish.**

For aim, the following scientific **objectives** were set:

1. Develop and pharmacologically, behaviorally, and neurochemically validate a test for behavioral despair in *Danio rerio* (Chapter 1).

2. Assess the weekly dynamics of the neurochemical and behavioral phenotype caused by the model of chronic unpredictable stress in zebrafish, and characterize the main effects of antidepressant exposure in the model, as a pharmacological validation (Chapter 2).

3. Identify abnormalities in gene expression in the brain of *Danio rerio*, caused by a model of chronic unpredictable stress, and assess the potential for the treatment of this phenotype with antidepressants (Chapter 2).

4. Propose new methods for interspecies translation of transcriptome data and determine the potential for their use (Chapter 3).

5. Determine the general abnormalities in the expression of brain genes that occur in *Danio rerio* and rats, exposed to chronic unpredictable stress. as well as people with Major Depressive Disorder (MDD) (Chapter 3).

Principal findings to be considered:

1) The proposed zebrafish tail immobilization test, by its psychopharmacological profile, can be analogous to tests for behavioral despair in rodents, having a pronounced sensitivity to antidepressant and acute stressful, but not pharmacological anxiolytic effects. This behavior is closely related to serotonergic and dopaminergic function.

2) Chronic unpredictable stress in zebrafish leads to the development of a persistent anxiety-like phenotype, while other behavioral axes have more complex temporal dynamics. The neurochemical profile in the model is closely related to serotonergic transmission. The presence of high variability of behavior and neurochemical data depending on the duration of the chronic stress protocol is stated.

3) Chronic stress causes specific disturbances in the brain transcriptome of Danio rerio, leading to differential expression of 196 genes and enrichment of 97 gene sets. At the same time, exposure to the antidepressant fluoxetine successfully restores the expression of most of these genes and gene sets. Among the genes differentially expressed between groups, *tpm4b*, *mov10b.1*, *isg15*, stat*1b* can be identified as important molecular targets for further research.

4) Traditional methods of direct interspecies comparison of transcriptome data are ineffective for identifying common genes involved in the pathogenesis of stress-induced disorders. To increase the sensitivity, it is proposed to use a meta-analytical comparison of data from the analysis of differential gene expression or enrichment of cliques found in the network of protein-protein interactions of each species separately.

5) Expression of *GRIA1*, *DLG1*, *CDH1*, *THRB*, *PLCG2*, *NGEF*, *IKZF1*, *FEZF2* in the brain has the greatest degree of conservation between zebrafish and rats exposed to the model of chronic unpredictable stress and patients with Major Depressive Disorder. The proposed set of 253 genes can be used to study affective pathology in vertebrates in an evolutionary-conservative context.

Based on the materials of the thesis, 11 scientific articles were published in international journals indexed by WoS and/or Scopus. The thesis results were reported and approved at international and Russian scientific conferences - the 26th, 27th, and 28th International Multidisciplinary Conference “Stress and Behavior” (St. Petersburg, May 2019-2021), 3rd and 5th the Annual Conference of the Institute of Translational Biomedicine SPBU (ITBM SPBU) “Actual problems of translational biomedicine” (St. Petersburg, June 2017 and July 2019), 11th International Regional (North America) Conference “Stress and Behavior” (Miami, USA, July 2017), 15th International Regional (Asia) Conference “Stress and Behavior” (Yamaguchi, Japan, September 2018), National Youth Medical Conference with international participation “Almazov Readings – 2018” (St. Petersburg, May 2018).

In the cycle of works constituting the thesis submitted for the defense, the author was directly involved at all stages of their implementation, including setting up and conducting experiments, developing protocols, statistical and bioinformatic analysis, discussing and publishing the results obtained, and coordinating projects. The author independently, in consultation with the scientific supervisor, determined the goals and objectives of the research, developed experimental approaches, interpreted the data, and attracted partial funding for the project. The dissertation work was carried out with the support of funds from the St. Petersburg State University, grants from the Russian Foundation for Basic Research and the Russian Science Foundation, a scholarship from the Rector of St. Petersburg State University, grants from the President of the Russian Federation, as well as the State Assignment of St. Petersburg State University. The Resource Center “Development of Molecular and Cellular Technologies” of St. Petersburg State University was used in the work.

Chapter 1 Development of a test to determine the behavioral despair in zebrafish

1.1 Methods, animals, and equipment

Animals and husbandry

Adult (4-6 months) wild-type *Danio rerio* short-tailed (even sex ratio) were purchased from a local supplier (Axolotl, St. Petersburg, Russia) and kept in ZebTec Active Blue Stands with Water Treatment Unit (Tecniplast, West Chester, USA) in the room for keeping aquatic animals of the ALmazov National Medical Research Center (St. Petersburg, Russia) in groups of 10 fish in 4-liter plastic aquariums filled with filtered water at a temperature of 27 ± 0.5 ° C and pH 7.4. Lighting (950-960 lux) in containment and behavioral testing rooms was provided by 18-watt fluorescent lamps with a 12/12 day/night cycle, following zebrafish care standards [196]. All fish used were experimentally naive and fed twice a day with Neon Micro Granules for fish 1-2 cm in size (Dajana Pet, Bohuňovice, Czech Republic), following the nutritional standards for *Danio rerio* [197].

The fish used in all experiments belonged to the same population and were randomly assigned to groups using a random number generator (https://www.random.org/). The animals were acclimatized to the new conditions for at least two weeks before the start of the experimental procedures. All behavioral and neurochemical studies were performed on different fish to avoid the effect of retesting (i.e. fish were experimentally naive in all experiments). All experiments were performed as planned and all data were examined, without excluding samples.

The zebrafish tail immobilization (ZTI) test

Behavioral testing was performed from 11:00 to 17:00 using water at room temperature (27 ^{o}C). Before testing, fish were individually exposed to various stimuli, including electric shock (Experiment 1), anxiety pheromone (Experiment 2), selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) sertraline (Experiment 3), tricyclic antidepressant amitriptyline (Experiment 4), or benzodiazepine-type anxiolytic drug - phenazepam (Experiment 5).

The experimental device for the zebrafish tail immobilization test (ZTI) is shown in Fig. 1. The caudal half of the fish was immobilized for 5 minutes in a wet viscose sponge (8 lengths x 4 heights x 5 widths, cm), cut in the middle with a sharp blade to a depth of 2 cm from below, and attached to the walls of a plastic cup (see below) using additional 2 cm side slits. At the same time, the cranial half of the fish was in a free state in a plastic cup (7x5.5-4.8 cut cone) filled with water (Fig. 1). The back and sides of the cup wall were sealed with a white film to improve the contrast of the fish against the cup background during the video recording of behavior.

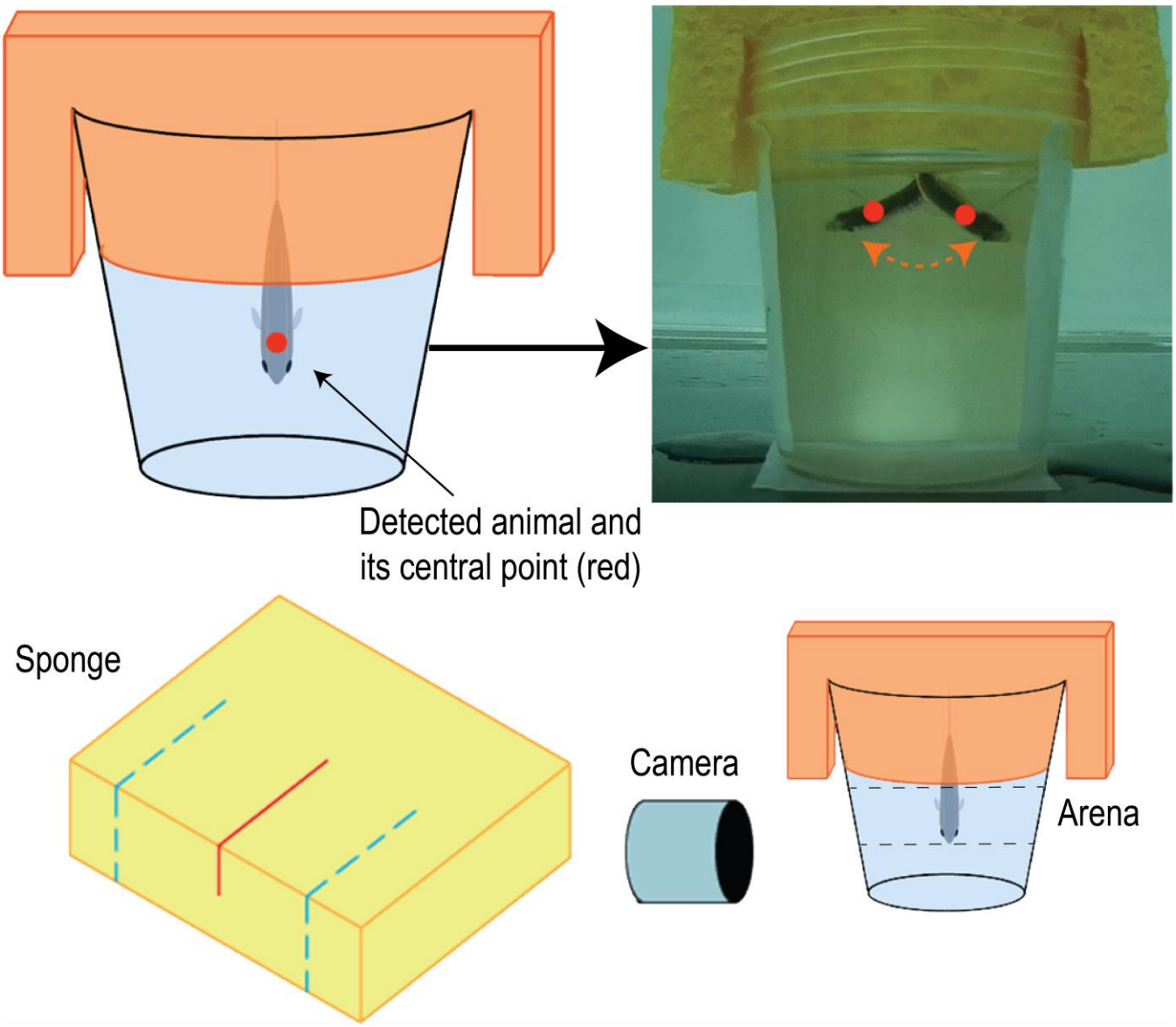

Fig. 1. Schematic diagram showing the experimental setup of the zebrafish tail immobilization test (ZTI), with typical behavior in the form of side-to-side movement of adult zebrafish [191]. The red dots represent the center point of the body as detected by the Noldus Ethovision XT11.5 software based on the visible part of the fish (not hidden behind the sponge). The bottom of the figure shows 2 cm cuts made on the sponge in the test used to attach the tail (center section) and attach the sponge to the container (blue lateral cuts). Also, the process of ZTI recording is presented, including the camera, as well as the area used as an "arena" in Noldus Ethovision XT11.5, inside which the behavior was assessed. Typical observed behavior and an example of an experimental video are also available from Youtube links (youtu.be/8kR3-ix8hUw) and the International Stress and Behavior Society (ISBS; www.stressandbehavior.com/zti).

In Experiment 1, fish (n = 15 per group) were placed in a 1 L aquarium (10 x 10 x 10 cm) and subjected to a low voltage electrical stimulus for 10 seconds, and then immediately placed in a zebrafish tail immobilization test (ZTI) for further testing. Electric current was generated using a 6 V low voltage transformer connected to two stainless steel plates (10 x 10 cm) attached to the inner walls of the aquarium, with a current of 0.1 V per cm of water, similar to other works using electric current on fish, including active avoidance models [198]. Electric current was chosen here as a well-known stressful, avoidable factor for *Danio rerio* [198, 199].

In experiment 2, fish (n = 15) were placed in a 20 ml plastic container and exposed to 1 ml of alarm pheromone. The alarm pheromone has also been selected as having a highly stressful and anxiogenic effect on *Danio rerio* [143]. To extract the alarm pheromone, several fish not participating in the experiment were euthanized in ice water, then 10-15 cuts were made on the skin, on each side of the body with a sharp blade, and the bodies were washed with 10 ml of distilled ice water, the resulting solution was also filtered (according to [143]).

In experiments 3-5, fish were exposed to pharmacological substances in 500 ml plastic containers for 20 minutes, similarly to [183, 185, 186], using 1% dimethyl sulfoxide (DMSO) solution containing 2, 10 or 15 mg/L sertraline (Experiment 3, n = 15 in each group), 1, 1.5 and 2 mg/L amitriptyline (Experiment 4, n = 15 per group) or 0.1, 0.5 and 1 mg/L of phenazepam (Experiment 5, n = 10 per group), respectively. DMSO (Tatkhimfarmpreparaty, Kazan, Russia) was used as an organic solvent (necessary to dissolve water-insoluble substances), widely used in behavioral studies in zebrafish that have no psychoactive effect at this dosage in other tests [200, 201]. Sertraline, amitriptyline, and phenazepam were manufactured by Pfizer, Inc. (New York, USA), Alsi Pharma (Kirov, Russia), and Medicines Manufacturing (Aksai, Russia), respectively. Concentrations were selected under pilot behavioral experiments and other studies investigating the effects of antidepressants [183, 185, 202] and phenazepam [203] in *Danio rerio*.

Sertraline and amitriptyline were selected for the pharmacological validation of the zebrafish tail immobilization test (ZTI) as two well-studied and widely used antidepressants with significant effects in clinical trials [204, 205], as well as having an antidepressant effect in tests for the behavioral despair rodents [103, 206, 207]. These drugs were previously studied in *Danio rerio* stress models and showed a high ability to affect their central nervous system [183, 185, 202]. The choice of these drugs was also related to the fact that they belong to different types of antidepressants, with the expectation of the possibility of generalizing the results of the study to a wide range of antidepressants in the presence of sensitivity to both drugs.

Phenazepam has been selected as a typical benzodiazepine with anti-anxiety effects in clinical trials [208, 209], and also because benzodiazepines have anxiolytic effects in rodents [210-213], but not antidepressant activity in acute exposure in rodent despair tests [79, 103]. The control group was placed as naïve in the test, i.e. immediately after removal from home tanks (Experiments 1-2) or after 20 minutes in a 500 ml container free of psychoactive substances (but containing 1% DMSO solution, Experiments 3-5). Moreover, to investigate the effect of DMSO on behavior in this test, Experiment 3 also tested the group not exposed to the DMSO solution (n = 15), comparing the group exposed to the solution and the group exposed to water without DMSO. In this study, no differences were found between groups (see below), which confirms that 1% DMSO did not affect behavior in the zebrafish tail immobilization test. Since sex differences play an important role in behavioral and pharmacological research in humans [214, 215], rodents [216, 217], and *Danio rerio* [218, 219], Experiment 6 was devoted to the study of potential sex differences in the zebrafish tail immobilization test (ZTI) using fish of both sexes, not subjected to any stress and pharmacological influences, according to a protocol similar to Experiments 1-2 (n = 15 for each sex). Sex determination was carried out by visual inspection by two experimenters and was also confirmed by the method of gonadal extraction, similarly to [220].

A growing body of evidence suggests the importance of inter- and intra-laboratory reproducibility of data in rodents [221, 222], as well as zebrafish studies [223]. For example, studies in

rodents have shown that different experimenters can get different results when testing [224-226]. To analyze this effect, two different experimenters, an athletic tall man and a young woman (both ages 21 years old), in parallel, using one experimental room and one cohort of fish, performed testing in the zebrafish tail immobilization test, each testing 15 fish, without additional influences. similar to Experiments 1-2 and 6.

All behavioral experiments were carried out between 11:00 and 17:00 hours, to test the effects of testing time and testing order, for the same purposes, the shooting of the experimental and control groups was carried out in parallel, at the same time. All tests were recorded on video using an SJCAM SJ4000 action camera (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) at 60 frames/sec. Each video from Experiment 1-2 was then manually processed to estimate the duration (sec) and the number of active avoidance attempts longer than 2 sec. Avoidance attempts were defined as prolonged contractile movements of the body, separated by episodes of immobility - complete immobility of the body, except movements of the gills and eyes. Noldus (Wageningen, Netherlands) EthoVision XT11.5 software [227] was used in Experiments 1-2 to investigate correlations between manually processed parameters and program-generated behavioral data (see also Statistical Analysis and Data manipulation). After confirming the effectiveness and reproducibility of behavioral results between manual and automatic processing (see Results), all behavioral experiments were analyzed using automated software to avoid human factors and to ensure the impartiality of data collection and analysis.

The Ethovision XT11.5 software in these experiments automatically determined several different, but conceptually similar parameters, which differently reflected the mobility in the zebrafish tail immobilization test (ZTI). Behavioral parameters analyzed in this work: distance traveled (cm), defined as the total distance covered by the central point of a certain animal, for the entire experiment (the center point is understood as the center of the observed, freely moving part of the fish, not covered by a sponge determined automatically by the program, Fig. 1); activity (average% of changed pixels) was determined as the average number of pixels changed between two successive frames, relative to the

dimensions of the arena in pixels (the arena was the processed part of the video recording, consisting of the upper half of the plastic container, Fig. 1); the time spent in the active state (time of activity, sec) was defined as the length of time when the animal was active, based on the analysis of changes in pixels (activity,%). Mobility in the Ethovision XT11.5 software is a discrete value (state parameter), analyzed based on the degree of change in the relative position of the pixels that define the object (against the activity at which the change in pixels is measured throughout the arena). In this work, mobility was assessed as the average number of changed pixels between successive frames with a minimum threshold of 20%. Accordingly, the time of mobility (sec) was estimated as the time spent by the body in a state of mobility - changes in at least 20% of the object's pixels between frames. A video showing typical behavior in zebrafish tail immobilization test can be found at the following links - youtu.be/8kR3-ix8hUw and www.stressandbehavior.com/zti.

The Novel tank test

To investigate potential behavioral changes caused by the zebrafish tail immobilization test (ZTI), Experiment 8 examined the behavior of fish in the Novel tank test (NTT) immediately after being exposed to the ZTI. In this experiment, fish were placed in the ZTI for 5 minutes, while the control group was placed in a container similar to that used in the test, without attachment to the sponge, to account for the effect of short-term social isolation. The NTT was selected in this study to investigate the behavioral effects of the ZTI as one of the most common, highly sensitive novelty-based tests used to assess stress-related behavior and motor effects [145, 173, 175]. After the ZTI exposure, the fish were then tested in the NTT, similarly to [176] (also see Chapter 2), to study behavior associated with anxiety and locomotor activity. The tank for the NTT was a rectangular aquarium (20 height x 20 length x 5 cm width), filled with water by 19 cm and virtually divided into two equal horizontal parts. The back and sides of the aquarium were filmed with white tape to increase contrast during the video recording of behavior, as well as to reduce the number of external visual stimuli.

The experiments were recorded using an SJCAM SJ4000 action camera for further analysis. The parameters assessed were the distance traveled (cm), the time of immobility (sec), the number of top entries (sec), the time spent in the top (sec), the latency to enter top(sec), the average distance to the surface water (cm) and average angle of rotation (angle), using the Noldus EthoVision XT11.5 software similarly to [228, 229]. Additionally, each video was manually assessed for the presence of ataxic-like behavior using a two-digit scale (0 = absent, 1 = present), including elements such as swimming on its side, upside down, or upright, to identify potential neurological abnormalities.

Neurochemical analyses

Monoamines play an important role in the pathogenesis of stress and affective disorders of the central nervous system, as in clinical studies [17, 230], and experimental rodent models [231, 232]. To study changes in monoaminergic systems in the zebrafish tail immobilization test (ZTI), the concentrations of norepinephrine (NE), serotonin (5-HT), dopamine (DA), and their metabolites 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), and homovanilic acid (HVA) in *Danio rerio* whole brain samples using HPLC-ED method, similar to [183, 185]. For example, Experiment 9 analyzed neurochemical changes caused by non-pharmacological manipulations in two cohorts (n = 15 per group) - control fish exposed to the ZTI and fish also exposed to electric shock by analogy with Experiment 1. To confirm the observed changes induced pharmacologically in Experiments 10 and 11, fish were exposed to the most psychoactive concentrations of sertraline (15 mg/L; n = 10) and amitriptyline (1 mg/L, n = 10 per group) in the ZTI using control fish similar to Experiment 9.

For the study, the fish were euthanized in ice-cold water immediately after exposure to the ZTI, and their brains were removed on ice and cryopreserved in liquid nitrogen for further analysis. On the day of HPLC-ED analyses, the samples were weighed and placed in 10 µl of ice-cold 0.1 M perchloric acid solution (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) , to preserve neurochemical analytes, with 100 ng/ml 3,4-dihydroxybenzylamine (DHBA, internal standard) for every 1 mg of brain tissue. The samples were

then sonificated (homogenized by sonication) for 10 seconds at 50% power and centrifuged and filtered using a PVDF filter (Merck Millipore, Billerica, MA, USA). HPLC-ED was performed using a CA-5ODS column on an HTEC-500 chromatograph (Eicom, San Diego, CA, USA) with a WE-3 G carbon electrode, with a potential of + 650 mV. The mobile phase consisted of 0.1 M perchloric acid solution (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) with 100 ng/ml 3,4-dihydroxybenzylamine (DHBA, internal standard) for each 1 mg of brain tissue to preserve neurochemical analytes. Concentrations were normalized using individual DHBA concentrations in the samples and reported as pg/mg brain tissue. Additionally, ratios of 5-HIAA to serotonin, DOPAC to dopamine, and HVA to dopamine were determined, reflecting the level of monoamine turnover in the brain.

Statistical analysis and data handling

Since the data was not assumed to be normal during the planning of the experiment, nonparametric tests were used for statistical analysis. Thus, the Mann-Whitney U-test (U-test) was used for pairwise comparisons in experiments using two groups, and the Kruskal-Wallis test (KU-test) followed by Dunn's post-Hawk test for pairwise comparisons of statistically significant KU- test data were used to analyze experiments with more than two groups. Unless otherwise stated, data are presented as mean ± standard error of the mean. Statistical significance was set at a p-value <0.05 in all tests. In behavioral experiments examining more than two metrics, the Bonferroni correction was used to account for multiple comparisons, with resulting alpha thresholds of <0.008 (Experiments 1-2) and <0.007 (Experiment 8). The sample size was determined based on past published studies examining stress and antidepressant effects on *Danio rerio* and their neurochemistry, including studies [183, 185, 186, 233] and based on pilot studies [234, 235], as well as statistical power analysis using an online calculator (www.sample-size.net/sample-size-means/) based on pilot data, with an effect size of 120 (based on the difference in mean travel distance in the zebrafish tail immobilization test), 80% effect power, 80 standard deviation (also based on pilot data) and statistical significance <0.05. All fish tested were included in the totals without exception and all planned analyzes are presented in this study.

1.2 Results

Electric shock in Experiment 1 reduced the parameters studied in the zebrafish tail immobilization test, except the number of episodes of activity (p> 0.008, U-test; Fig. 2 and Table 1). Exposure to the alarm pheromone in Experiment 2 caused similar changes, reducing distance and % mobility, but did not affect other behavioral parameters (Fig. 2 and Table 1).

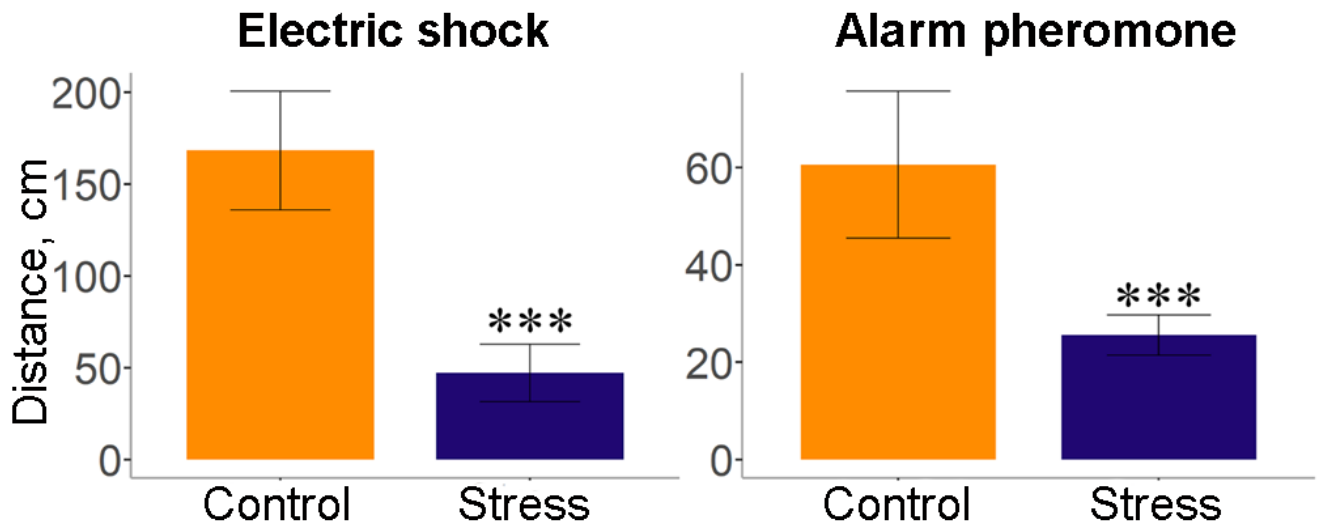

Fig. 2. Behavioral effects of two stressors, short (10 sec) exposure of 0.1 V/cm electric current (Experiment 1) or 1 ml of anxiety pheromone on behavior in 5 minutes ZTI [191]. Data are presented as mean ± standard error of the mean. ***p<0.008 versus control, MW-test (n = 15; see also Table 1).

For pharmacological validation of the proposed test in Experiment 3, the SSRI sertraline was used, which had a statistically significant effect in the test, increasing the distance traveled (KW-test, H = 16.48, P = 0.0009) at concentrations of 10 and 15 mg/l and time spent mobile at a concentration of 15 mg/l (H = 19.47, P = 0.0002; Fig. 3 and Table 1). Moreover, 1% DMSO solution (without any psychoactive substances) did not affect the behavior of *Danio rerio* in the test (Table 1). In Experiment 4, the tricyclic antidepressant amitriptyline was used, that increased the distance traveled (KU-test, H = 9.371, P = 0.0247) and the time spent mobile (H = 10.72, P = 0.0133) at a concentration of 1 mg/l (Fig. 3 and Table 1). However, the benzodiazepine anxiolytic drug phenazepam (Experiment 5) did not affect

the behavior of zebrafish in all tested concentrations (Fig. 3 and Table 1). Likewise, no differences were found between the behavior of fish of different sexes in the test, and no effect of the experimenter on the test results was found (Experiments 6-7; Table 1).

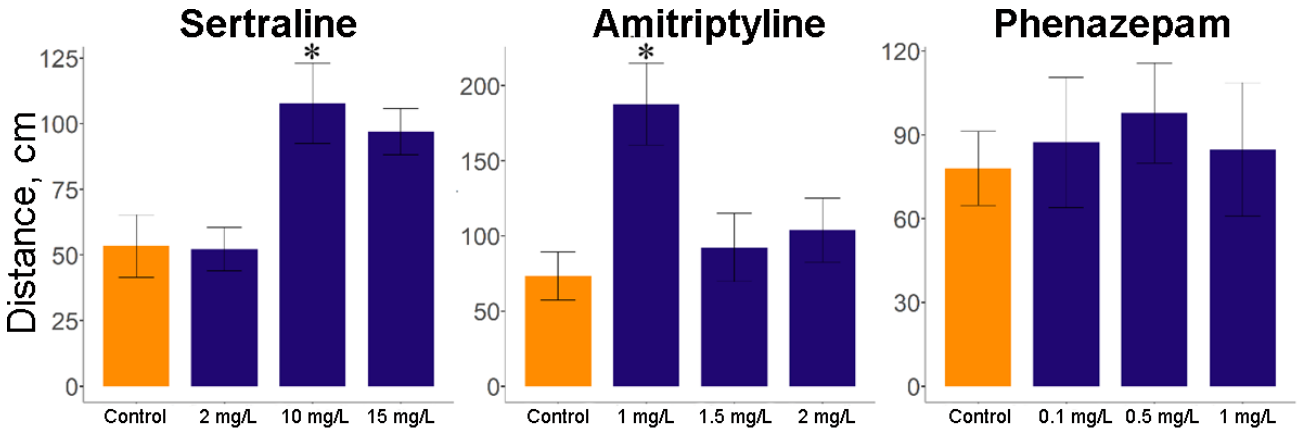

Fig. 3. Behavioral effects of 20 minutes exposure to sertraline, amitriptyline (n = 15) and phenazepam (n = 10) in a 5 minute zebrafish tail immobilization test (Experiments 3-5) [191]. Data are presented as mean ± standard error of the mean. *p<0.05 versus control, Dunn's post-hoc test for statistically significant in the KW-test data (see also Table 1).

In Experiment 8, fish subjected to the zebrafish tail immobilization test before testing in the novel tank test statistically significantly reduced the distance traveled and increased the time spent immobile but showed no change in other parameters, including those evaluating anxiety-related behavior (Fig. 4, Table 2) Also, neither groups experienced ataxia-like behavior (data not shown).

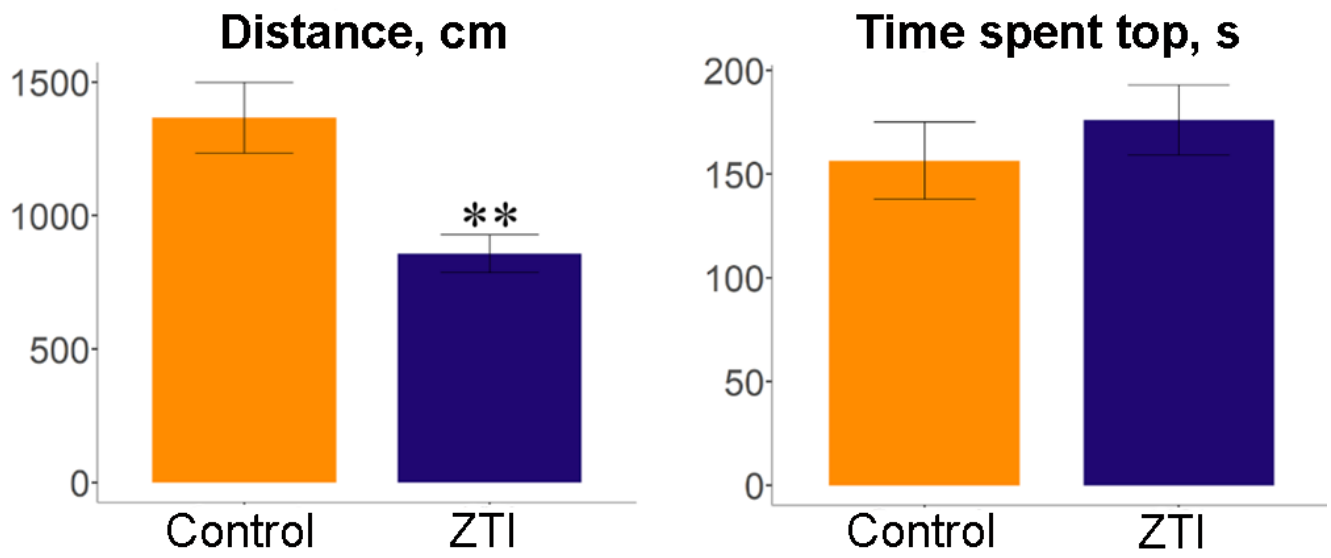

Fig. 4. Behavioral Effects of a 5 Minute ZTI Test on *Danio rerio* Behavior in the Novel Tank Test (Experiment 8) [191]. **P<0.007 versus control, MW-test (n = 15; see also Table 2).

A neurochemical analysis comparing the control group, the group exposed to the zebrafish tail immobilization test, and the group that received an electric shock before similar testing (Experiment 9) showed an increase in the ratio of 5-HIAA to serotonin in both experimental groups relative to the control group (Fig. 5, Table 3). Also, the group receiving additional electric shock exposure showed an increase in DOPAC and 5-HIAA levels, as well as the ratio of DOPAC to dopamine (Fig. 5, Table 3). At the same time, sertraline at a behaviorally active concentration in the test (15 mg/L, Experiment 10) reduced the ratio of both 5-HIAA to serotonin and DOPAC to dopamine compared to the simple test group, as well as amitriptyline (1 mg/l), which also reduced the level of 5-HIAA (Fig. 6, Table 4).

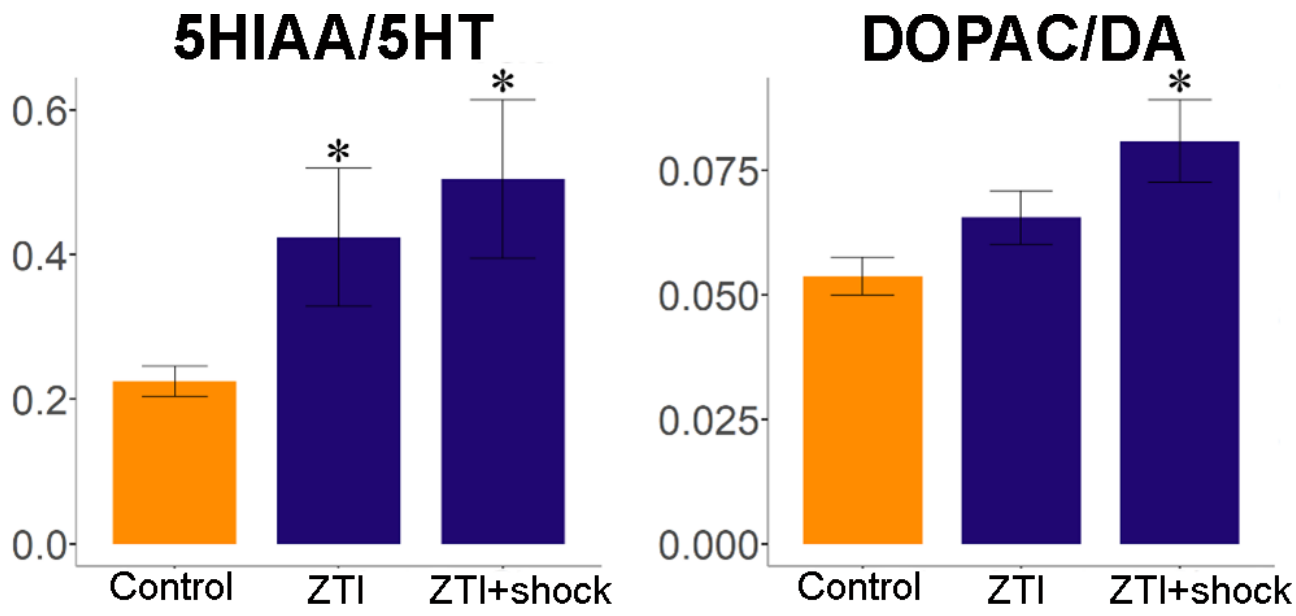

Fig. 5. Neurochemical Effects of 5 Minute ZTI Testing with preliminary exposure to low voltage (0.1 V/cm) electric Current on Neurochemical parameters reflecting the ratio of serotonin metabolite (5HIAA) or dopamine metabolite (DOPAC) to corresponding monoamine levels in *Danio rerio* whole brain samples measured by HPLC-ED [191]. The parameters reflect the level of monoamine turnover in the brain. Data are presented as mean ± standard error of the mean. *$p<0.05$ versus control using Dunn's test for data statistically significant by the KW-test (n = 15; see also Table 3). 5-HT - Serotonin, DA -

Dopamine.

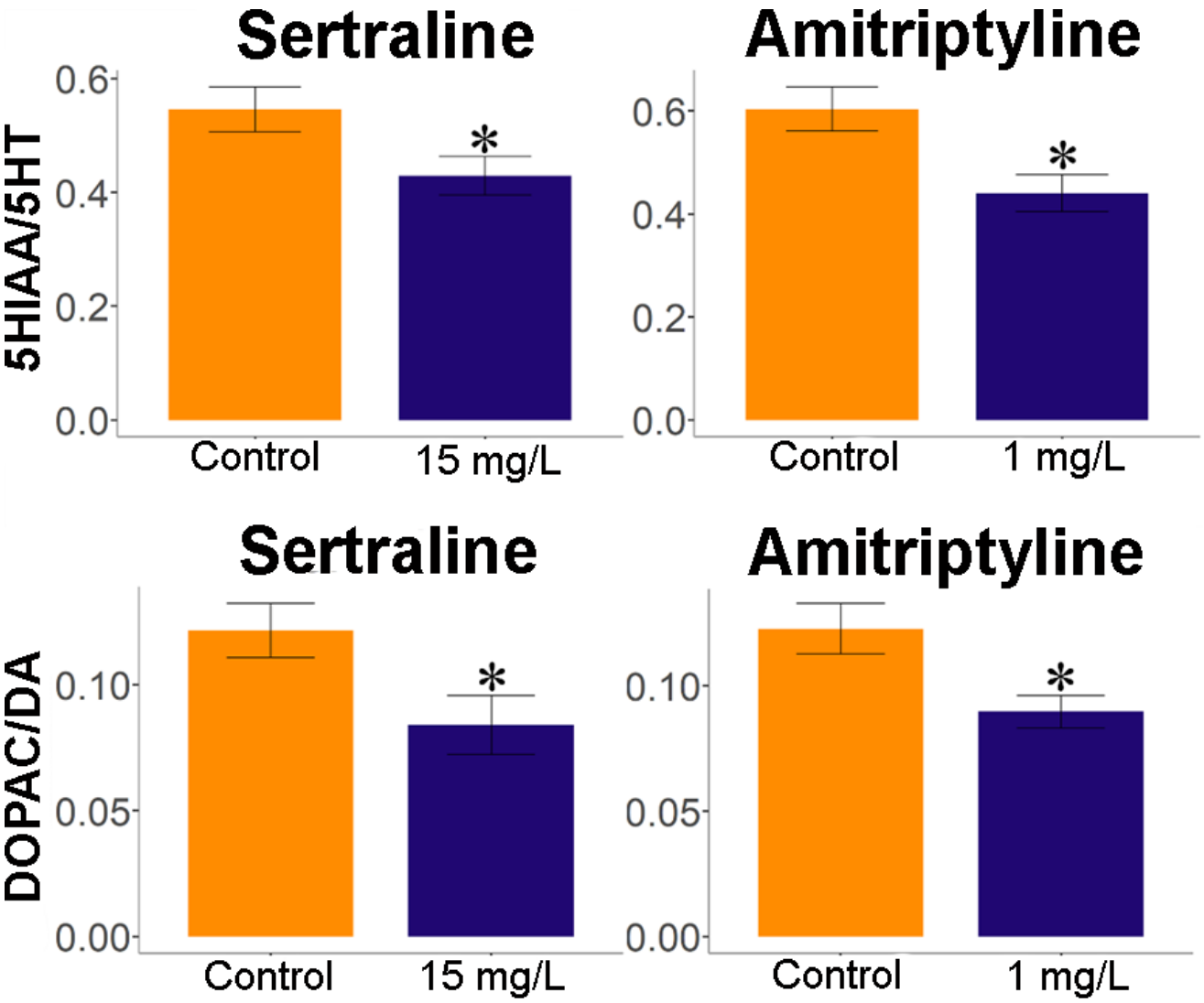

Fig. 6. Neurochemical effects of 5-minute ZTI with a preliminary 20-minute exposure to antidepressants sertraline (10 mg/L, Experiment 10) or amitriptyline (1 mg/L, Experiment 11) on neurochemical parameters reflecting the ratio of serotonin metabolite (5HIAA) or dopamine metabolite (DOPAC) to the corresponding levels of monoamines in *Danio rerio* whole brain samples as measured by HPLC-ED [191]. The parameters reflect the level of monoamine turnover in the brain. Data are presented as mean ± standard error of the mean. * $p < 0.05$ versus control, using Dunn's test for data statistically significant by KW-test (n = 10; see also Table 4). 5-HT - Serotonin, DA – Dopamine

Table 1. Behavioral Effects of Various Stressors (Experiments 1-2), Drugs (Experiments 3-5), and External Factors (Experiments 6-7) in zebrafish tail immobilization test (ZTI) [191]. Data are presented as mean ± standard error of the mean. ***p<0.008 versus control, MW-test for Experiments 1-2 (n = 15). *p<0.05 versus control, Dunn's test for pairwise comparisons of statistically significant KW-test data in Experiments 3-4. #p <0.05 using KW-test. Also, see Fig. 2 and 3 for additional data.

Behavioral parameters	**Results**			
Stressors (Experiments 1-2)				
	Control	Electrical shock	Control	Alarm pheromone
Activity, n	9±1	13±2	10±2	8±1
Time spent active, s	89±16	32±7*	26±8	11±2
Actiity, %	1±0.2	0.3±0.1*	0.2±0.1	0.1±0.1
Mobility, %	15±3	4±1*	7±1	4±0.5*
Time spent mobile, s	59±12	13±4*	16±6	6±2
Pharmacological manipulations (Experiments 3-5)				
	Control	Concentrations		
Experiment 3: Sertralin		2 mg/L	10 mg/L	15 mg/L
Time spent mobile, s	20±6	18±4	40±6	49±5* #
Experiment 4: Amitriptyline		1 mg/L	1.5 mg/L	2 mg/L
Time spent mobile, s	19.2±6	74±13*	29±9	43±11#
Experiment 5: Phenazepam		0.1 mg/L	0.5 mg/L	1 mg/L
Time spent mobile, s	19.4±6	18±9	20±7	15±7
Experiment 6 (sex effect) and 7 (experimenter effect)				
	Male fish	Female fish	Male experimenter	Female experimenter
Distance, cm	65±12	64±11	80±11	78±13
Time spent mobile, s	16±4	18±4	26±5	18±4
Dimethyl sulfoxide (DMSO) effects (additional data from Experiment 3)				
	Control	1% DMSO		
Distance, cm	41±10	53±12		
Time spent mobile, s	14±5	20±6		

Table 2. Behavioral effects of a 5-minute ZTI test exposure on zebrafish behavior in the novel tank test (NTT; Experiment 8) [191]. **P<0.007 versus control, MW-test with Bonferroni correction for comparison of several parameters (P <0.007) (n = 15; see also Fig. 4). NS - no statistically significant changes (P> 0.007). There was no evidence of ataxia behavior in both groups (data not shown).

NTT behavior	**Control**	**ZTI**	**P <0.007**
Immobility time, s	53±14	108±17	P = 0.0027
Number of top entries, n	14±2	10±2	NS
Latency to enter the top, s	65±17	69±24	NS
Average distance to the surface, s	9±1	7±1	NS
Average rotation angle, angle	13±2	19±3	NS

Table 3. Neurochemical changes in *Danio rerio* whole brain samples induced by 5-minute ZTI with preliminary exposure to low-voltage (0.1 V/cm) electrical, determined by HPLC-ED [191]. Data are presented as mean ± standard error of the mean pg/mg brain weight or ratio. NS - no significant changes. *p<0.05, Dunn's post-hoc test for data statistically significant by the KW-test (n = 15; see also Fig. 5).

Parameters	**Groups**			**H, KW-test**
	Control	**ZTI**	**ZTI+electric shock**	
Monoamines				
Serotonin (5-HT)	329±46	327±37	365±45	NS
Dopamine (DA)	207±31	264±39	285±32	NS
Norepinephrine (NE)	946±113	1041±102	1149±109	NS
Monoamine metabolites				
5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)	142±23	247±37	324±56*	11.85, p<0.005
Dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)	20±3	34±5	44±6*	9.60, p<0.01
Homovanilic acid (HVA)	4.5±0.5	7±1	8±1	NS
Metabolic ratios				
HVA/DA ratio	0.01±0.003	0.01±0.002	0.01±0.003	NS

Table 4. Neurochemical alterations in zebrafish whole brain samples as a result of 5-minute testing in ZTI with a preliminary 20-minute exposure to the antidepressants sertraline (10 mg/l, experiment 10) or amitriptyline (1 mg/l, experiment 11) [191]. Data are presented as mean ± standard error of the mean pg/mg brain weight or ratio. *p<0.05 versus control MW-test (n = 10; see also Fig. 6).

Parameters	**Groups**			
	Control	**Sertraline 10 mg/L**	**Control**	**Amitriptyline 1 mg/L**
Monoamines				
Serotonin (5-HT)	314±29	327±33	380±36	340±28
Dopamine (DA)	194±18	213±29	278±22	256±20
Norepinephrine (NE)	711±76	665±54	1010±89	939±79
Monoamine metabolites				
5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)	167±16	137±16	227±22	146±13*
Dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)	23±3	18±3	33±3	23±3
Homovanilic acid (HVA)	9±3	5±0.5	8±2	6±1
Metabolic ratios				
HVA/DA ratio	0.05±0.02	0.03±0.004	0.03±0.005	0.03±0.003

1.3 Discussion

In this study, a new method was developed - the zebrafish tail immobilization test (ZTI), as a way to assess behavior similar to behavioral despair in rodents, by analogy with the popular rodent tests the Forced Swimming Test and the Tail Suspension Test [104, 106, 180, 236-238]. The results obtained (Fig. 2 and Table 1) suggest the presence of a pronounced sensitivity to acute stressful effects in these tests, including electric current. At the same time, the lower sensitivity to the alarm pheromone (observed indirectly, in terms of the mean values of activity endpoints) probably reflects the sensitivity of the test

to the intensity of the stressors used, because electric current suggests directly damaging effects, and the alarm pheromone is a warning signal and is indirectly dangerous. Acute stress data are in good agreement with known results from rodent tests such as acute electric shock to the paw [105, 106, 238] or acute immobilization stress [104], which decreases the activity of rodents in the Porsolt test. The Steru test has a similar sensitivity, with an increase in the time spent in an immobile state after exposure to an electric current on the paw of mice [105, 106].

Since both classical rodent paradigms were developed as a test for determining antidepressant activity [97], it is logical to validate the test by a pharmacological method, by testing antidepressants and other drugs in the ZTI to determine the sensitivity of the test and assess the similarity of the psychopharmacological profile of the test with the tests of rodents. Both tested antidepressants with different mechanisms of action, the tricyclic antidepressant amitriptyline, and the selective serotonin reuptake inhibitor sertraline, significantly increased (approximately doubled) the activity of *Danio rerio* in the test (Fig. 3 and Table 1).

In turn, the anxiolytic drug of the benzodiazepine class phenazepam did not have a pronounced effect on the behavior of zebrafish in this test (Fig. 3 and Table 1), similar to studies of drugs of this class in rodents [103]. Summarizing the above, this psychopharmacological profile of the zebrafish tail immobilization test (ZTI) is in good agreement with the well-known paradigm of behavioral despair in rodents in terms of key effects and, thus, can be effectively used to distinguish drugs with an antidepressant effect from drugs with an anxiolytic, but not an antidepressant effect in *Danio rerio*. At the same time, further validation of the test remains necessary, both within the framework of pharmacological screening and within the framework of the study of behavioral effects in models of mental and neurological disorders *Danio rerio*.

For example, it may be interesting to examine the interaction between behavioral despair and depression-related models. Thus, it has been shown that in rodents the behavioral despair increases only in some (for example, stress-based) models associated with depression [25]. Since behavioral despair is

not unique to these models (i.e., it is observed in other paradigms), this approach is also criticized for lack of validity [87, 239]. Further, the study of the behavioral despair in zebrafish can help determine the intersections between despair and depression in vertebrates and find common, evolutionarily conservative pathological states and biomarkers. At the same time, it remains unclear whether it is possible to "separate" anxiety and depressive phenotypes in zebrafish [180]. Thus, the study of the effects of chronic stress on zebrafish behavior in ZTI may be useful in identifying the interactions of anxiety, depressive, and despair-like phenotypes in *Danio rerio* (see Chapter 2).

Moreover, ZTI also has methodological and conceptual limitations that need to be discussed. Thus, it may be problematic to distinguish emerging effects from neurological phenomena. For example, as in rodent tests, behavioral indicators are closely related to motor activity, and thus strong sedatives or severe muscle fatigue can reduce the zebrafish performance in the test, without affecting the stress axis or despair behavior *per se*. For example, although amitriptyline was effective in ZTI at 1 mg/L, it did not reduce despair behavior at higher concentrations (Fig. 3), although these concentrations are known to be anxiolytic, which may indicate the development of the characteristic hypolocomotor effect of amitriptyline observed earlier [183, 185].

Similar to rodent tests for behavioral despair, the nature of the observed behavior, as well as its relationship to human disease, remains poorly understood (see [103, 180] for discussion)**.** For example, the paradigm of behavioral despair originally proposed by Porsolt corresponds to the behavior when an animal "gives up" in its active attempts to avoid [103] and thus could correspond to the decrease in psychomotor activity observed in depressed patients [240]. At the same time, modern theories also suggest that episodes of immobility provide the animal with an opportunity to escape (psychological rest) from stress and thus represent part of the coping strategy of search-expectation, while attempts to avoid is the second part of this strategy [241]. Another theory argues that episodes of immobility are closely related to "suppressed fight-or-flight" responses, in which excessively strong feelings of aggression or the desire to flee are inhibited [242-244], and thus similar to the feeling of being trapped

and cornered in humans [244]. Also, immobility behavior may be related to the animal's inability to maintain avoidance efforts, as opposed to general hypolocomotion, because even sedative antidepressants reduce immobility in despair behavior tests [103], corresponding to the lack of sustained effort in depressed patients with psychomotor deficits [245].

Neurochemical analysis showed that activity in ZTI in zebrafish is associated with changes in serotonergic and dopaminergic activity. Moreover, although ZTI testing only leads to an increase in serotonin turnover, additional pre-exposure to electric current increases both serotonin turnover and dopamine turnover, resulting in increased levels of the metabolites 5-HIAA and DOPAC (Fig. 5 and Table 3). The data correlate well with other studies that show pronounced serotonergic and dopaminergic activation in response to severe acute stress in a variety of species, including fish [246-251] and, thus, confirm the stressful nature of ZTI and its sensitivity to stressful influences. Given the possible similarity of ZTI to tests for despair behavior in rodents, the neurochemical responses resulting from ZTI are also in good agreement with the known effects of rodent tests [252, 253]. For example, DOPAC in the striatum and the 5-HIAA to serotonin ratio in the anterior cortex and amygdala of Porsolt rats become increased [252]. Moreover, pretreatment with sertraline caused a decrease in metabolite-to-monoamine ratios, and exposure to amitriptyline also decreased 5-HIAA levels (Fig. 6, Table 4) after ZTI. Thus, the proposed test changes the activity of monoaminergic systems in the brain of *Danio rerio*, while antidepressants acting on these systems restore the natural level of activity of these systems (see also [183, 185]). Despite this, further research is needed to understand the role of serotonin and dopamine in *Danio rerio* behavior in ZTI and rodents in behavioral despair tests. For example, studies using microdialysis can help observe changes in extracellular concentrations of monoamines and their metabolites during ZTI. Also, the study used whole-brain samples, the use of which represents a more generalized and less sensitive approach for detecting changes in the neurochemical state of the brain, which therefore requires a deeper, zoned study of the effects.

An important practical and ethical aspect for discussion is the question of how to minimize pain and the degree of interference in the process of immobilization of fish in the ZTI since immobilization can cause unwanted pain and discomfort, which in turn can affect results. The proposed protocol using an immobilization sponge (Fig. 1) has proven to be relatively safe because the fish tested in ZTI did not have pronounced motor deficits and ataxia behavior during subsequent testing in NTT (Fig. 4, Experiment 8). Although not a single animal died during testing, its implementation only by highly trained experimenters is necessary for the correct conduction of the ZTI and harm reduction, due to the relatively delicate manipulations. However, when all the necessary conditions are met, ZTI is a safe method for assessing zebrafish behavior. What is important, the fish in ZTI are kept in their usual aquatic environment, without the risk of hypoxic stress and temperature changes, unlike many other stressful influences [254-256]. It is also important to note that fish subjected to ZTI did not show not only neurological/motor differences, but also changes in the level of anxious behavior in NTT, which may also indicate a high safety of the procedure.

Since *Danio rerio* have pronounced sex differences in different models [188, 218, 219] and tests for despair behavior in rodents also often show such differences [206, 257], it is logical to evaluate the effects of gender on the phenotype observed in the test. In this study, no effect of gender on *Danio rerio* behavior in the ZTI test was found (Table 1), however, there is a possibility that the activity level of the two sexes can vary to varying degrees depending on the experimental exposure, for example, pharmacological drugs, thus emphasizing the importance of further research in this area.

Given the great concern of the scientific community related to the reproducibility of research [221], including research on *Danio rerio* [223], special attention should be paid to the methodological aspects of the models. For example, some relatively simple and straightforward manipulations, such as stressing through network chasing, are often not sufficiently described to be reproducible [258-260]. Some other models, such as chronic stress batteries, despite good literature description [154, 158, 163, 255], involve complex manipulations that are difficult to standardize and replicate between and within

the laboratory. From this point of view, ZTI is a simple procedure with easily reproducible experimental conditions and with a relatively small number of simple, closely related, and easily automated for determining behavioral indicators (Fig. 1, Table 1). Thus, ZTI is fully consistent with the current principles of scientific research within the potential of reproduction. Moreover, the use of inexpensive equipment, combined with inexpensive programs for automatic analysis of behavior [261, 262], makes the model available for widespread use.

In this work, there is relatively high variability in the basic activity between the control groups in different experiments (Fig. 2-3, Table 1), which, however, does not allow concluding the excessive variability of behavior, since similar fluctuations are also pronounced in other behavioral tests on this model organism [218, 263]. To study these differences in more detail, an experiment was carried out comparing the effects of two different experimenters on the behavior of zebrafish, which did not confirm the presence of any effect. Although the lack of an experimenter's effect on *Danio rerio* stressful behavior was noted in other models and tests [229, 264], it should be noted that both experimenters were highly trained (more than 10 experiments with 60 fish each) and the lack of training can lead to marked differences due to the difficulty of manipulation. Most likely, the high variability of the control groups can be explained by a combination of unknown external and internal factors that will need to be determined in the future. The ability to determine the effects of exposure in comparison with an intact control group remains the most important goal in neuroscientific studies and the most critical is to ensure the same intergroup conditions for both groups, which was done in this study. Likewise, standardization of experimental conditions does not always lead to a decrease in behavioral variability in animal models [265, 266]. Thus, behavioral fluctuations in control groups are not unique to ZTI or *Danio rerio*, and cannot be considered a negative factor in the test.

In summary, this chapter has proposed the zebrafish tail immobilization (ZTI) test as an effective new method for studying stress-related behavior and antidepressant activity in *Danio rerio*. Further research is needed to study the methodology in more detail, as well as the pharmacological sensitivity

of the test and its validity. Given the importance of preclinical drug testing, as well as reducing its cost, the introduction of ZTI into research practice can help reduce the cost and accelerate the search for new drugs with antidepressant activity. The use of zebrafish can also be effective from the point of view of the ethical principle of 3R - replacement, reduction, and refinement [147, 267]. For example, ZTI uses a less sophisticated and “intelligent” organism (fish versus rodents), in conjunction with a less invasive drug administration procedure (dilution in water versus injection). What is important, ZTI can be used in a high-throughput form to determine the most active drugs for further, more costly testing in rodents.

Since the mechanisms behind despair behavior in animals remain poorly understood [25, 26, 180], and their study is often complicated by complex pharmacological and stress responses [87, 268], the use of *Danio rerio* as a simpler organism can be effective for studying the behavior of “despair” in vertebrates and determining the evolutionary-conservative pathways associated with this experimental manipulation.

Chapter 2 Behavioral, molecular and neurochemical effects of chronic unpredictable stress in zebrafish

2.1 Methods, animals, and equipment

Animals and husbandry

The experiment used adult short-tailed, experimentally naive *Danio rerio* aged 3-5 months (sex ratio 1: 1), which were purchased from a local company (Axolotl, St. Petersburg, Russia) and kept for 3 weeks under standard conditions (see further) in groups of 10-15 fish in 4-liter aquariums (density 2.5-3.75 fish per liter) in the room for aquatic animals of the Almazov National Research Center in tanks for keeping ZebTec Active Blue Stands with a water filtration system in a water treatment plant (Tecniplast, West Chester, USA), filled with a flow-through system filter with water with a temperature and pH value maintained at 27 ± 0.5 °C and pH 7.4, respectively. Indoor lighting (950-960 lux) was provided by fluorescent lamps with a power of 18 W with a cycle of 12 to 12 (except for the implementation of the model, Table 5). The fish were fed twice a day with small Neon Micro Granules for fish 1-2 cm in diameter (Dajana Pet, Bohuňovice, Czech Republic) according to *Danio rerio* feeding standards [197] (excluding CUS modeling procedure, Table 5). All fish belonged to the same basic population and were randomly assigned to treatment groups using a random number generator (https://www.random.org/). Without exception, all test animals were included in the final analysis. All experiments were performed following the protocol plan and all analyzes and data obtained were included in the work, without exception.

Table 5. The chronic unpredictable stress (CUS) protocol that was used in the study (adapted from [163]). Fish that underwent behavioral testing were excluded from further modeling, euthanized, brains removed for further research [192].

CUS day	Stressors	Behavioral tests
1	Tank change → Local hypothermia*	
2	Net chasing (10 min) → Novel objects **(6 h)	
3	Crowding (2 h) → Air exposure***	
4	Darkness (24 h)	
5	Food deprivation (24 h)	
6	Water change → noise in unfamiliar tank **** (4 h)	
7	Alarm pheromone ***** → cohorts mixing	Week 1 NTT/LDT
8	Bright light (4 h) → Novel objects (8 h)	ST
9	Crowding (2 h) + cohorts mixing → chasing (15 min)	ZTI
10	Noise in unfamiliar tank **** (5 h) → Water change	Euthanasia
11	Darkness (24 h)	
12	Food deprivation (24 h)	
13	Air exposure→ Local hypothermia	
14	Bright light (6 h) → Alarm pheromone	Week 2 NTT/LDT
15	Noise in unfamiliar tank (6 h) → cohorts mixing	ST
16	Novel objects (10 h) → low water level (8 h) + Water change	ZTI
17	Crowding (3 h) + cohorts mixing → Alarm pheromone	Euthanasia
18	Darkness (24 h)	
19	Food deprivation (24 h)	
20	Chasing (20 min) → Local hypothermia	
21	Bright light (8 h) → Alarm pheromone	Week 3 NTT/LDT
22	Crowding (12 h) → cohorts mixing	ST
23	Air exposure→ low water level (10 h) +Water change	ZTI
24	Noise in unfamiliar tank (8 h) → Alarm pheromone	Euthanasia
25	Darkness (24 h)	
26	Food deprivation (24 h)	
27	Bright light (12 h) → low water level (12 h)	
28	Tank change + cohorts mixing → air exposure	Week 4 NTT/LDT
29	Food deprivation (24 h) → Local hypothermia	ST
30	Bright light (14 h) → chasing (30 min)	ZTI
31	Alarm pheromone → Novel objects (18 h)	Euthanasia
32	Darkness (24 h)	
33	Food deprivation (24 h)	
34	Noise in unfamiliar tank (10 h) → Crowding (12 h)	
35	-	Week 5 NTT/LDT
36	-	ST
37	-	ZTI
38	-	Euthanasia

NTT – the novel tank test, LDT – the light-dark test, ST – the shoaling test, ZTI – the zebrafish tail immobilization test
*adding 0.5 l of ice to the tank
**adding 20 unknown toys from Kinder Surprise to the aquarium
***by removing the entire cohort in one net (30 sec, alternating with 1 min in the aquarium x 5 times)
****using 40-watt speakers
*****5 ml of alarm pheromone per 1 liter of water, extracted according to the method [143, 191]

Chronic unpredictable stress (CUS)

The experimental design of the study is summarized in Fig. 7 and Table 5, using the 5-week CUS protocol, similar to [163]. Fish from the control group were kept in conditions similar to the experimental cohort but remained experimentally naive throughout the study, similar to [163]. On day 28, fish exposed to the CUS protocol was divided into two groups (stress and fluoxetine), both of which continued to be exposed to the CUS protocol, but the fluoxetine group was also chronically exposed to the Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (SSRI) fluoxetine at a concentration of 0.1 mg/L dissolved in home tanks during the last 11 days of the study (Fig. 7 and Table 5). Fluoxetine was selected in this study as a classic SSRI antidepressant with well-studied clinical activity [269-271] and proven efficacy in rodent studies [272-275] and zebrafish [143, 157, 163, 276, 277]. The concentration and duration of exposure were selected based on past CUS works on *Danio rerio* [163].

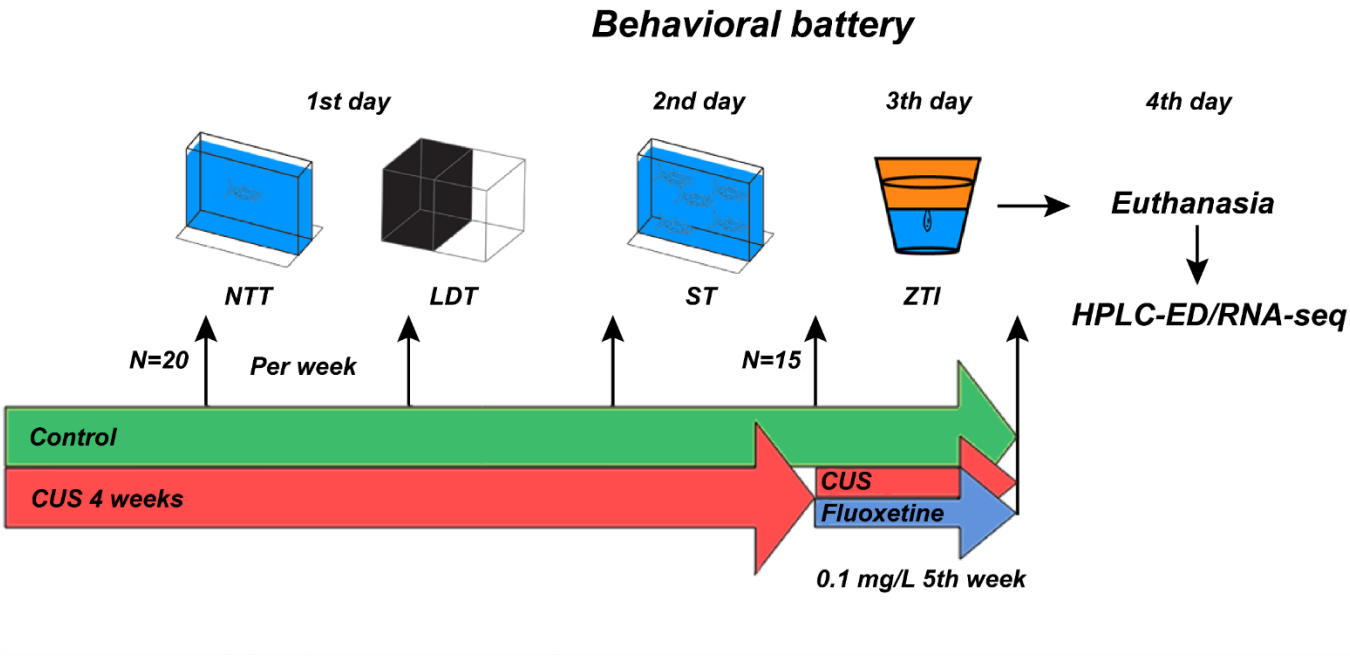

Fig. 7. The brief experimental design [192]. NTT – the novel tank test, LDT – the light-dark test, ST – the shoaling test, ZTI – the zebrafish tail immobilization test

Behavioral testing

Behavioral testing of parallel *Danio rerio* cohorts with different durations of stress exposure (1-5 weeks of the CUS) was carried out daily using a 3-day behavioral battery, one day after the last stress exposure in the CUS 7 and Table 5). Behavioral testing was performed between 9:00 and 18:00 (the novel tank test, the shoaling test, and zebrafish tail immobilization test between 9:00 and 12:00 and light-dark test from 15:00 to 18:00). The behavioral battery consisted of individual *Danio rerio* testing in novel tank test (1st day morning), light-dark test (1st day evening), shoaling test (2nd day morning), and zebrafish tail immobilization test (3rd day morning), as shown in Fig. 7. Testing *Danio rerio* 24 hours after the last exposure was chosen here to avoid the behavioral effects of recent acute stress, thus focusing on the basal, long-term pathological effects of chronic stress. Zebrafish that passed the behavioral battery were excluded from the further CUS protocol on the appropriate days, and did not receive stress during the behavioral testing, and were euthanized after testing. The protocol used was chosen as one of the well-tuned zebrafish protocols, causing pronounced behavioral and molecular abnormalities in *Danio rerio*, consistent with other CUS models [163]. Before behavioral testing, all fish (n = 20 in weeks 1-3, and n = 15 in weeks 4-5, Figure 7) were moved from the housing room to the behavioral testing room and acclimatized to the room for two hours. After behavioral testing, the fish were returned to their home tanks in the aquatic system. A specific experimental battery was selected in this study due to the low sensitivity of *Danio rerio* to the effect of the test battery [278]. The battery was organized according to the intensity of stressors, from low-stress tests to high-stress tests to reduce the potential effects of the previous testing, as suggested in [126].

The novel tank test was chosen as the most sensitive and widely used behavioral test for the study of anxiety-like behavior and locomotion in *Danio rerio* [128, 173, 175]. The test methodology is similar to past works [161, 176]. The apparatus for the test was a 2-liter rectangular aquarium (20 height × 20 length × 5 width in cm), filled with water up to 19 cm, virtually divided into two equal horizontal halves (top and bottom). The back and sides of the apparatus were filmed with white on the outside to increase

the contrast of the fish against the background and to reduce external visual stimuli during the recording of behavior. The experiments were recorded on an SJ4000 action camera (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) at a recording speed of 60 frames/sec. The distance traveled during the testing time (cm), the time of immobility (sec), the time spent in the top half of the tank (sec), and the number of transitions to the top were studied. The videos were processed using the automatic behavioral recording software EthoVision XT11.5 (Noldus IT, Wageningen, Netherlands), as in other works [228, 229].

The dark light aquarium test was selected for this work as another widely used test for assessing anxiety behavior in zebrafish [173, 279]. The apparatus for testing was a 20-liter aquarium (20 height x 50 length x 20 cm width) filled with water 15 cm high and divided into two halves, black and white. The experiments were recorded on an SJ4000 action camera (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) at a recording speed of 60 frames/sec, similar to testing in an unfamiliar aquarium test. Each video was then processed by highly trained experimenters blinded to the experimental treatments. The time spent and the number of transitions to the light zone of the tank were assessed.

The shoaling test was chosen in this work as a common method for analyzing social and stress-related behavior in *Danio rerio* [280], using the novel tank test apparatus described above. During testing, fish from each of the groups were placed in the aquarium in groups of 5 fish and 5 minutes after acclimatization to the aquarium, the schools they formed were photographed every ten seconds for one minute, resulting in 6 photos for each aquarium (n = 24 for weeks 1 -3, n = 18 for weeks 4-5), similarly [280, 281]. Each photograph was then calibrated to the size of the tank and analyzed by two highly trained experimenters (blinded to the experimental effects), estimating the mean distance between fish (cm) and mean distance to the surface of the water (cm) for each fish in the photograph using the ImageTool software (University of Texas Health Sciences Center, San Antonio, TX). Behavioral characteristics assessed in the novel tank test, the light-dark test, and shoaling test are fully consistent with established behavioral phenotypes according to the Zebrafish Behavioral Catalog (ZBC) [282].

The behavioral despair test was used here as a test developed in this work (Chapter 1) to assess stressful behavior and the effect of psychoactive substances on zebrafish, similar to rodent behavioral despair tests and is sensitive to acute stress and antidepressant effects and insensitive to anti-anxiety drugs [191] (Chapter 1). Given the complexity of the interaction between despair behavior and chronic stress in rodents [30, 283-285], it is especially interesting to study the effects of CUS on the behavioral despair of *Danio rerio* in the zebrafish tail immobilization test. In this test, the caudal part of the fish is immobilized for 5 minutes using a viscose sponge (8 L x 4 H x 5 W in cm), cut from the bottom in the middle with a sharp blade to a depth of 2 cm, and attached to the sides of a plastic cup (see below) similar cuts on the sides of the sponge [191] (Chapter 1). At the same time, the cranial half of the fish remains free to move in a plastic cup, which is a 7 x 5.5-4.8 cm cut cone, filled with water [191] The experiments were recorded on an SJ4000 action camera (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) at a recording speed of 60 frames/sec and then processed by three highly trained observers (blinded to the experimental groups), assessing the duration of active escape attempts lasting more than 2 sec [191] (Chapter 1). Active attempts to escape were defined as prolonged contractile movements of the body, separated by episodes of immobility - complete immobility of the body, except movements of the gills and eyes [191] (Chapter 1).

Neurochemical analyses

Monoamines in the brain play an important role in stress and affective (mood) disorders both clinically and in rodent models and *Danio rerio* [140, 161, 183, 185, 190, 191, 286, 287]. To study the dynamics of their changes in the brain of zebrafish as a result of CUS exposure, the concentrations of norepinephrine, serotonin, dopamine, 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), and homovanilic acid (HVA) in whole samples were studied. brain Danio rerio using the method of High-Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detector (HPLC-ED), similar to other works [183, 185, 190, 191] (Chapter 1). As shown in Fig. 7 brain samples were collected the day after the behavioral battery, between 9:00 and 13:00 hours. The one-day interval was chosen to

minimize the immediate effects of the behavioral testing, allowing the focus to be on the baseline effects of the CUS. The fish used for the neurochemical study were randomly selected from their respective experimental groups using a random number generator (https://www.random.org/). Samples for analyzes were not pooled and were analyzed individually.

In short, the fish were euthanized in ice water immediately after being removed from home aquariums and their brains were removed on ice and cryopreserved in liquid nitrogen for further analysis [191] (Chapter 1). On the day of analyzes, samples were weighed and placed in 10 μl of ice-cold 0.1 M perchloric acid solution (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) with 100 ng/ml 3,4-dihydroxybenzylamine (DHBA, internal standard) for each 1 mg of brain tissue, for the preservation of neurochemical analytes, similar to [191]. Then the samples were ultrasonically homogenized (sonificated), for 10 seconds at half the sonicator power, purified by centrifugation, followed by extraction of the aqueous phase and filtration through 0.22 μm Durapore-PVDF centrifugal filters (Merck Millipore, Billerica, MA, USA), similarly to [191]. HPLC-ED was performed using a CA-5ODS column on an HTEC-500 chromatograph (Eicom, San Diego, CA, USA) with a WE-3 G carbon electrode, + 650-mV potential. The mobile phase for chromatography consisted of 0.1 M phosphate buffer, 100 mg/L sodium octyl sulfonate, 50 mg/L ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), 17% pH methanol adjusted to pH 4.5 using phosphoric acid (all reagents purchased in Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), likewise [191]. Chromatography data were normalized using individual DHBA concentrations in the samples and reported as pg/mg brain tissue. We also studied the ratios of monoamine metabolites to monoamines themselves - 5-HIAA/serotonin, DOPAC/dopamine, and HVA/dopamine, reflecting the turnover of the corresponding monoamines, similarly to [191].

RNA-sequencing

Brain samples for gene expression analysis were collected without sample pooling (1 brain per 1 sample) the day after the behavioral battery, between 9:00 and 13:00. The one-day interval was used to minimize the potential acute effects of behavioral testing on gene expression, allowing to focus on the

baseline effects of the CUS. Fish (n = 6-7) for RNA sequencing were randomly selected using a random number generator (https://www.random.org/). Similar to neurochemical analysis, the fish were euthanized in ice water immediately after removal from home aquariums and their brains were removed on ice and cryopreserved in liquid nitrogen for further analysis. RNA isolation was performed by TRI-reagent (Molecular Research Center, catalog number 118) according to the manufacturer's instructions. Quality was assessed using electrophoresis, Quantus, and QIAxel. Poly (A) RNA was purified using the Dynabeads mRNA Purification Kit (Ambion). The Illumina library was made from poly (A) RNA with the NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (NEB) according to the manufacturer's instructions. Sequencing was performed on an Illumina HiSeq2500 with 140 bp reads, with 27 million reads generated for each sample.

The qualitative polymerase chain reaction in real-time (qPCR)

To confirm the results of RNA sequencing, a short study of the expression of selected genes (*isg15*, *saga*, *otx5*, and *tpm4b*) in *Danio rerio* whole brain samples was also carried out using one home base gene (*b-act*) using the qPCR method following other research methods, with minor changes [163, 189, 190, 233]. The genes were selected based on the analysis of the centrality (hub) of their vertices (points, node) in the constructed graphs of protein-protein interactions (see below in the graph analysis section) and various patterns of their expression among groups (*isg15* is a differentially expressed gene as in stress group and in fluoxetine, *saga* - in stress versus fluoxetine, *otx5* - stress versus control or fluoxetine, and *tpm4b* - stress versus control). Primer design was performed using the National Center for Biotechnology Information (NCBI) Primer-BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) database (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), or using primers from past experiments (*b-act*) (Table 6) and synthesized by Evrogen, Ltd. (Moscow, Russia).

Table 6. List of primers used in the work [192].

Gene name/direction		**Primer sequence**
b-act	Forward	CATCAGGGTGTCATGGTTGGT
	Reverse	TCTCTTGCTCTGAGCCTCATCA
isg15	Forward	ACTTGATTTCGGTGCGACTTGC
	Reverse	GCTGCATCGTCACCGAGTTAT
otx5	Forward	CGCCGTCGGTTACCCTAACAC
	Reverse	GGTTTTGGAGAACAGCGCCT
saga	Forward	GTAGATCCAGTGGACGGTGTC
	Reverse	GTCGTCATCACGGCCATACC
tpm4b	Forward	TCGCGTTTGCGATGATGTCTG
	Reverse	CTGCTACATCTCCTTCAGCTTTCT

Similar to other molecular analyzes in this work, qPCR samples were collected without pooling samples (1 brain per 1 sample) the day after the behavioral battery, between 9:00 and 13:00 hours. As already noted, the one-day interval after the last CUS procedure was chosen here to exclude the acute effects of behavioral testing on gene expression, allowing us to concentrate on the basic effects of CUS on gene expression. Fish (n = 10) for analysis were randomly selected from experimental groups using a random number generator (https://www.random.org/). The fish were euthanized with ice water immediately after removal from home tanks, and their brains were removed on ice and cryopreserved in liquid nitrogen for further analysis. RNA isolation was performed with TRIzol ExtractRNA analog (Evrogen, Russia) according to the manufacturer's instructions. Next, cDNA was synthesized using oligo (dT) 20 primers using the same amount of RNA per sample (MMLV RT kit Evrogen, Russia). Then the rtPCR procedure was performed using the qPCRmix-HS SYBR kit (Evrogen, Russia) and the real-time

amplifier CFX Connect Real-Time (Bio-Rad laboratories, Hercules, CA, USA) in 3 replicates for each sample. The PCR reaction consisted of incubating the mixture for 5 minutes at 95°C to activate Taq DNA polymerase, followed by a cycle of denaturation at 95°C for 20 seconds, annealing at 60°C for 30 seconds, and elongation at temperature 72°C for 20 seconds. Gene expression levels were normalized to β-actin home base gene expression using the Pfaffl method [288, 289].

Statistical analysis and data handling

The present study used generalized linear models (GZLM) to analyze the dynamics of observed changes induced by CUS and chronic exposure to fluoxetine. GZLM is a generalization of regression methods that allows variables to have distributions other than normal, making it suitable for analyzing abnormal data [290]. GZLM is widely used in various fields of modern international literature [291-293], including studies with *Danio rerio* [294]. For behavioral and neurochemical analyzes, Wald chi-squared ANOVA (Type II) was performed for the obtained GZLM (Table A.1 in the Appendix) with the Tukey post-hock test for pairwise comparisons of statistically significant GZLM/Wald-test data (Table A.2-A.4 in the appendix). GZLM is an effective method for multivariate data analysis that allows you to analyze both parametric and non-parametric data [291, 292, 295, 296].

To study the CUS effects on *Danio rerio* behavior in dynamics, the effects of the testing week, group, and their interactions were used as predictors in the GZLM model, comparing the CUS group and the control group for 1-5 weeks (GLM1). To study the effect of fluoxetine, another model was used, using 3 groups (control, CUS, and fluoxetine) for 5 weeks of exposure to avoid unsaturation of the model (lack of data for 1-4 weeks in the fluoxetine group), which would limit the possibilities of GZLM and ANOVA in the evaluation of the effect of the drug (GZLM2; Appendix Table A.5). To select the optimal distribution (goodness of fit) of the GZLMs and the link function for each parameter, the levels of the Akaike information criterion (AIC) were determined [297, 298] for the Gaussian distribution (identity link), Poisson distribution (log link), Gamma distribution (inverse and log links) and Inverse Gamma distribution (inverse and log links), choosing the model with the lowest AIC level (an indicator that the

model is most likely the most suitable for analysis) [299]. GZLM for neurochemical studies was constructed using factors of the week, group, and their interactions. A similar approach was used to analyze the week 5 data and the effect of fluoxetine. All calculations were performed using the R program [300].

The sample size was chosen based on past studies on *Danio rerio* related to stressful behavior [161, 163, 183, 185, 191, 233], as well as calculating the sample size using the pwr2 package of the R program. Briefly, for GZLM1, the effect size was determined using the speed (as one of the main behavioral indicators of zebrafish) from the work [163] (stress effect; effect size = 0.68) and [229] (test day effect; effect size = 0.75). Similarly, for GZLM2, the smallest effect size was used for the rate between stress and fluoxetine (0.68) [163]. The resulting sample sizes, n = 4 for GZLM1 and n = 11 for GZLM2 (for subgroups group * week), were further adjusted to account for potential mortality (e.g. due to CUS), the number of fish required for molecular studies, and the potential for smaller effect sizes. Eventually, the experiment was started with n = 20 at weeks 1-3, but was reduced to n = 15 at weeks 4-5, in accordance with the ethical principle of reducing the number of animals used in the study, because no mortality was detected as a result of exposure to CUS. All plots in this chapter were constructed using the ggplot2 package of the R program version 3.3.0 (https://ggplot2.tidyverse.org) [301]. All fish were presented in the final analysis without exceptions, and all planned analyzes are presented in this work. All experimenters were blinded to the test groups, including behavioral, neurochemical and transcriptional studies, statistical and video processing, using individual codes to identify fish and/or groups. All manual data processing was performed by at least two highly trained observers blinded to exposures with an inter- and intra-evaluative confidence> 0.85, based on Spearman's correlation coefficient.

For differential gene expression analysis, reads were mapped to the *Danio rerio* GRCz11 reference genome using STAR spliced aligner [302] and processed further using featureCounts [303] to obtain raw counts. 32057 genes were used for analysis using the R program for statistical calculations

[300], Bioconductor package [304], and DESeq2 package [305]. This method was chosen as the recommended tool for the analysis of experiments with less than 12 samples per group, stable even within 0.5-fold change, and also showing consistent results with other methods such as EdgeR (when using the exact test), Limma, and EBSeq [306]. First, all lines (genes) without counts or with only one count in all samples were removed from further analysis, resulting in 28932 genes for further analysis. Then, differential expression analysis was performed using the Negative Binomial (Gamma-Poisson) distribution to determine factor sizes, variance, negative binomial generalized linear models, and Wald statistics using the DESeq function. The p-values were established using the Benjamin-Hochberg correction. The P-value and False Discovery Rate (FDR) were set to 0.05. Differential expression analysis was used to compare the control and CUS groups, the chronic fluoxetine and control groups, and the chronic fluoxetine and CUS groups. The resulting statistically significant differentially expressed genes in comparisons were compared between analyzes for convenience and eventually broken down into gene subgroups uniquely represented in the original analyzes and gene sets that appeared to be represented in multiple analyzes. Two sets of genes were identified, presented simultaneously in two analyzes - genes co-expressed, both in the CUS group and in the fluoxetine group in comparison with the control group (genes that did not change their expression as a result of the action of fluoxetine on the CNS) and genes that changed their expression in different directions in the analyzes of CUS against the control group and fluoxetine against CUS (genes that restore their activity as a result of exposure to fluoxetine to the level of the control group). Unless otherwise indicated, all data are presented as mean ± standard error of the mean, and the P-value is set to <0.05 in all analyzes. For the analysis of qPCR, the Kruskal-Wallis test (KW-test) was performed, followed by Dunn's post-hoc test for pairwise comparisons of statistically significant data of the KW test (Table A.8 in the Appendix). The experimental design of the studies, as well as its description, and the analysis and presentation of the data were performed in accordance with the ARRIVE guidelines for animal studies and PREPARE for planning and testing in animal studies.

Gene set enrichment analysis, GSEA

GSEA is a widely used method for analyzing gene expression data, which is presented in the form of known molecular sets (often pathways and cascades), which facilitates the efficient assessment of biologically significant changes from the point of view of body biology [307-310]. Despite this, the classic GSEA method has some disadvantages, including the inability to work with data groups of different sizes and complex experimental designs [311]. One of the new subtypes of GSEA, the generally applicable gene set enrichment (GAGE) for molecular gene set analysis, aims to address the limitations of GSEA in these aspects [311]. Databases molecular pathway enrichment analyzes were performed Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) [312] and Gene Ontology (GO) [313] on counts normalized and transformed with respect to the logarithm of two (counts) using the GAGE package of the R program [311], using Student's t-test for pairwise comparison of differentially expressed gene sets in groups. The FDR was set at 0.05 for KEGG paths and 0.01 for GO paths. The FDR for GO paths was lowered since the GO database contains significantly more paths than the KEGG database (~ 40000 versus ~ 500), and, as a consequence, an FDR of 0.05 resulted in a large number of statistically significant paths differentially expressed in the GO database, while the task of the study is to concentrate on the most statistically significantly different molecular pathways. Gene sets were also grouped according to the similarity of key genes contributing to the observed pathway changes using the function esset.grp (p-value <10e-10) in order to provide an accurate representation of their functional relationship, choosing the most functionally significant enriched set. genes where necessary to describe the results [314].

Graph analysis

Graph theory analysis was performed using Cytoscape for Integrated Biomolecular Interaction Models version 3.8.0 [315, 316]. The protein-protein interaction (PPI) network (graph) was generated from statistically significantly differentially expressed genes from all analyzes using the STRING

database (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) [317] (https://string-db.org/cgi/input.pl), from the significant PPIs with the addition of 20 proteins that were proposed by STRING as closely related to the list of proteins (the text mining method was excluded from the assessment of the significance of PPI interactions, and all proteins that did not have a connection with the main network were excluded from the network), with the minimum degree of interaction between proteins according to STRING = 0.15. The resulting PPI network was analyzed in Cytoscape using the cytoHubba package [318] to identify important/central/hub proteins (vertices, nodes), identifying 10 proteins with the highest degree, 10 proteins with the highest bottleneck value, and 10 proteins with the highest value, assessed by the Double Screening Scheme (DSS), combining the Density of Maximum Neighborhood Component (DMNC) and Maximum Neighborhood Component (MNC) [318]. The degree of a vertex (node, protein) v was defined as the number of edges of a vertex *v*, i.e. represents the number of relationships a protein has with other proteins. The bottleneck of a vertex was determined using the betweenness centrality of a vertex, based on the calculation of the number of shortest paths between a vertex passing through a given vertex [319]. The bottleneck proteins are likely important in the network, serving as bridges for interactions between other proteins [320]. The MNC of a vertex (node, protein) *v* was defined as the size of the maximum component of the subnetwork *N(v)* constructed by the vertices adjacent to *v*. The DMNC of a vertex (node, protein) *v* was defined as $E/N\varepsilon$, where *N* is the number of vertices and *E* is the number of faces of MNC(*v*), and $\varepsilon = 1.7$. The DSS was further calculated as follows: for the *n* most significant expected output proteins (*n* is an empirical value), *2n* proteins were selected using DMNC (choosing the proteins with the maximum DMNC value). These proteins were ranked by MNC value and the *n* proteins with the highest value were selected as the result. DSS (DMNC || MNC) method has been shown to be effective for identifying important proteins in PPI networks [321]. The gene co-expression network was constructed in a similar way using the Cytoscape program and the GeneMANIA application [322-324] (https://genemania.org/) and analyzed by similar graph analysis techniques.

2.2 Results

Generalized Linear Model Analysis 1 (GZLM1) was used to compare the behavior of chronically stressed and control groups in the novel tank test over 5 weeks. GZLM1 showed a statistically significant effect of the Wald-test for group and week factors in terms of distance traveled, as well as time spent at the top, with statistically significant intra-week differences between the control and stress groups in all 5 weeks (Fig. 8 and Table A.1- A.4 in the appendix). Also, for the parameter of time spent immobile, there was a statistically significant effect on the factors group, week, as well as the effect of their interaction, and Tukey's post-hoc test showed a statistically significant intra-week difference between groups only at 2nd week of experimental modeling (Fig. 8 and Tables A.1-A.4 in the appendix). There was a statistically significant effect on the number of top entries for group factors and group and week interactions, but not for group factor alone, and Tukey's test showed significant differences between control and stress group in the first week (Fig. 8 and Table A.1 -A.4 in the appendix). GZLM1 also showed the presence of a statistically significant effect on the factors group, week, and their interaction for the latent period of top entry, where Tukey's post-hoc test showed significant differences between the stress group and the control at the 2nd, $3^{rd,}$ and 5th weeks of testing (Fig. 8 and Tables A.1-A.4 in the appendix).

GZLM2 analysis of the effects of chronic unpredictable stress, chronic exposure to fluoxetine, and the control group at the 5th week of stress showed a statistically significant effect on the factor group for distance traveled, with statistically significant post-hoc differences in the Tukey test between the stressed group relative to both the control group and the group that received exposure to fluoxetine (Fig. 8 and Table A.5 in the appendix). Also, there was a statistically significant effect on the group factor for the time spent top, with a significant effect in the Tukey post-hoc test between the control group and both experimental groups (Fig. 8 and Table A.5 in the Appendix). The latency time for the top entry was statistically significantly different for the group factor, and Tukey's post-hoc test showed the presence

of pairwise differences between the stressed group and the other two groups (Fig. 8 and Table A.5 in the appendix).

In the test light-dark test in the GZLM1 analysis, a statistically significant effect was found for the factors group and the interaction of the group and the week on the parameter of time spent in the light zone, and the Tukey post-hoc test showed statistically significant differences between the groups at weeks 1-3, but not other weeks (Fig. 8 and Tables A.1-A.4 in the appendix). At the same time, no statistically significant differences were found for other factors in terms of the number of transitions to the light zone (Fig. 8 and Tables A.1-A.4). Also, no statistically significant effects were found in GZLM2 (Fig. 8 and Appendix Table A.5).

In the shoaling test, GZLM1 showed a statistically significant effect on the factor group for the average distance between fish (Fig. 8 and Table A.5 in the appendix). Distance to the surface showed a statistically significant effect on group factors and group-week interaction, with inter-group differences at weeks 1–2, but not other weeks (Figure 8 and Appendix Table A.5). GZLM2 showed a statistically significant group effect, and the post-hoc Tukey test showed significant differences between the stressed group and the rest, for the average distance between fish (Fig. 8 and Table A.5 in the appendix).

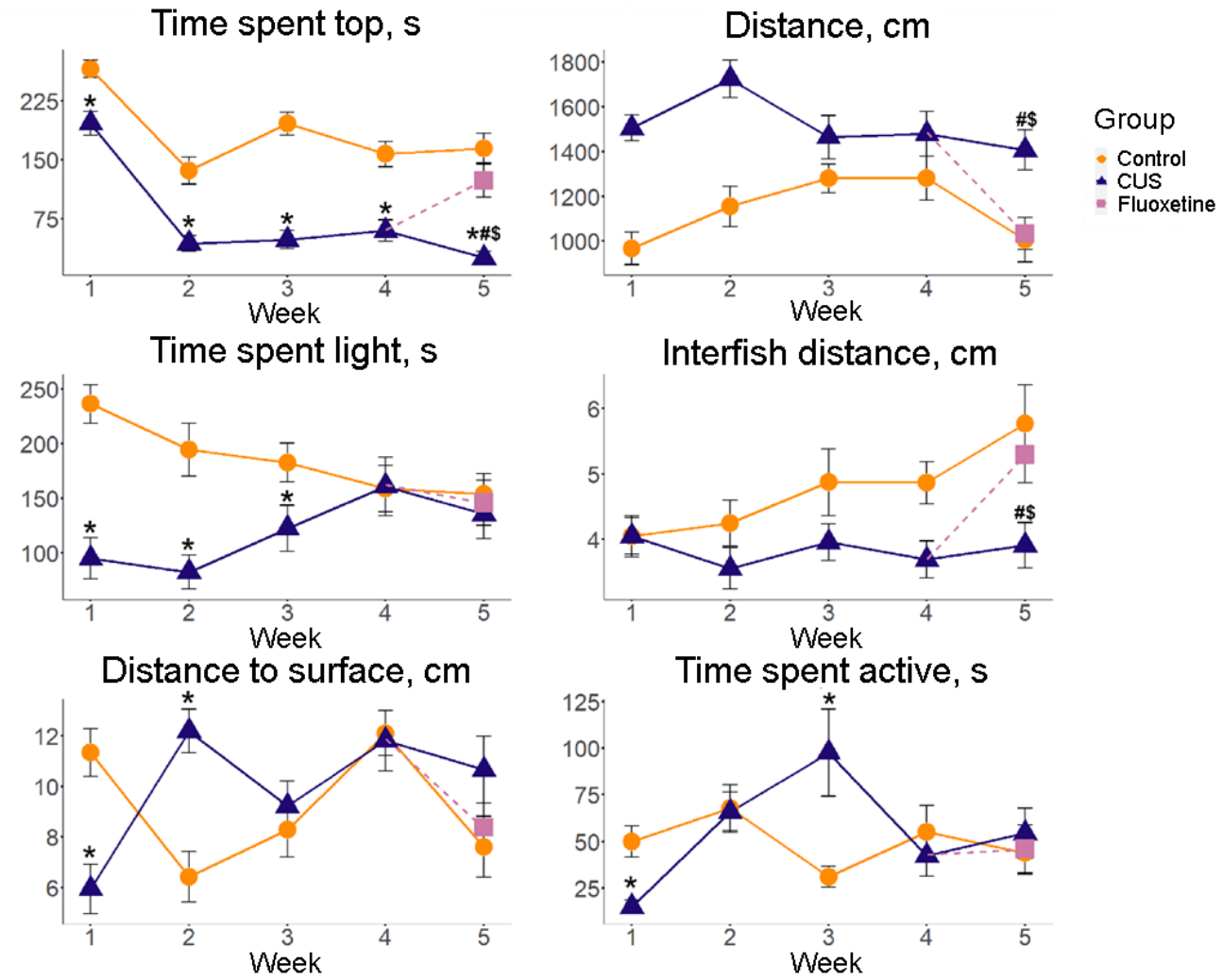

Fig. 8. Dynamics of behavioral changes induced by CUS and fluoxetine in the novel tank test, the light-dark test, the shoaling test, and the zebrafish tail immobilization test [192]. Data are presented as mean ± standard error of the mean (n = 20 at 1-3 weeks and n = 15 at weeks 4-5), *p<0.05 stress versus control (GZLM1), #p<0.05 stress versus control (GZLM2), $p<0.05 fluoxetine versus control (GZLM2) post-hoc Tukey test for statistically significant differences according to Wald's test (ANOVA type II). See also Tables A.1-A.5 in the appendix for statistical details.

Table 7. Data are presented as mean ± standard error of the mean (n = 20 at 1-3 weeks and n = 15 at weeks 4-5), * p <0.05 stress versus control (GZLM1), #p <0.05 stress versus control (GZLM2), $ p <0.05 fluoxetine versus control (GZLM2) post-hawk Tukey test for statistically significant differences according to Wald's test (ANOVA type II). See also Tables A.1-A.5 in the appendix for statistical details [192]. Behavioral scores were studied in the novel tank test (NTT), light-dark test (LDT), shoaling test (ST), and zebrafish tail immobilization test (ZTI), see also Fig. 8 and 9, Tables A.1-4 in the appendix. NS - no significant changes (p>0.05), DOPAC - 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, 5-HIAA - 5-hydroxyindoleacetic acid, HVA - homovanilic acid. Df - degrees of freedom.

Factors	Df	χ^2	P	Factors	Df	χ^2	p
NTT Distance, cm				**NTT Time spent immobile, s**			
Week	4.00	11.12	0.03	Week	4.00	21.09	<0.01
Group	1.00	52.03	<0.01	Group	1.00	9.51	<0.01
Week x Group	4.00	9.52	NS	Week x Group	4.00	11.95	0.02
NTT Time spent top, s				**NTT Number of top entries, n**			
Week	4.00	148.85	<0.01	Week	4.00	14.01	0.01
Group	1.00	149.59	<0.01	Group	1.00	0.25	NS
Week x Group	4.00	11.76	0.02	Week x Group	4.00	18.33	<0.01
NTT Latency to top, s				**ZTI Time spent active, s**			
Week	4.00	17.63	<0.01	Week	4.00	10.67	0.03
Group	1.00	27.06	<0.01	Group	1.00	0.60	NS
Week x Group	4.00	10.38	0.03	Week x Group	4.00	19.80	<0.01
LDT Time spent in light, s				**LDT Number of light entries, n**			
Week	4.00	2.45	NS	Week	4.00	6.50	NS
Group	1.00	31.54	<0.01	Group	1.00	2.47	NS
Week x Group	4.00	17.11	<0.01	Week x Group	4.00	2.70	NS
ST Distance to surface, cm				**ST Average interfish distance, cm**			
Week	4.00	12.26	0.02	Week	4.00	5.36	NS
Group	1.00	1.31	NS	Group	1.00	12.76	<0.01
Week x Group	4.00	34.86	<0.01	Week x Group	4.00	5.46	NS
Dopamine, pg/mg				**DOPAC to dopamine ratio**			
Week	4.00	11.02	0.03	Week	4.00	10.67	0.03
Group	1.00	0.88	NS	Group	1.00	0.37	NS
Week x Group	4.00	2.77	NS	Week x Group	4.00	3.80	NS
DOPAC, pg/mg				**5-HIAA, pg/mg**			
Week	4.00	3.51	NS	Week	4.00	7.19	NS
Group	1.00	0.40	NS	Group	1.00	2.52	NS
Week x Group	4.00	3.40	NS	Week x Group	4.00	14.73	0.01
5-HIAA to serotonin ratio				**Serotonin, pg/mg**			
Week	4.00	6.53	NS	Week	4.00	4.23	NS
Group	1.00	2.70	NS	Group	1.00	0.54	NS
Week x Group	4.00	18.22	<0.01	Week x Group	4.00	5.67	NS
HVA to dopamine ratio				**HVA, pg/mg**			
Week	4.00	7.06	NS	Week	4.00	3.47	NS
Group	1.00	2.59	NS	Group	1.00	2.34	NS
Week x Group	4.00	5.18	NS	Week x Group	4.00	5.97	NS
Norepinephrine, pg/mg							
Week	4.00	13.76	0.01				
Group	1.00	3.79	NS				
Week x Group	4.00	4.56	NS				

Table 8. Post-hoc Tukey test results for statistically significant ANOVA type 2 (Wald Chi-square test) for Generalized Linear Models data using groups (control, CUS, fluoxetine) at week 5 as a predictor (GLM2; Table A.5 in the Appendix) [192]. Behavioral performance was studied in the novel tank test (NTT), light-dark test (LDT), shoaling test (ST), and zebrafish tail immobilization test (ZTI), see also Fig. 8 and 9, Table A.5. NS - no significant changes (p> 0.05), DOPAC - 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, 5-HIAA - 5-hydroxyindoleacetic acid, HVA - homovanilic acid. Df - degrees of freedom.

Endpoints	Df	χ^2	p	Groups compared	ΔM	95% CI	z. test	p
Novel Tank test								
Distance, cm	2.00	13.22	<0.01	Control – Fluoxetine	-28.33	[-269.06, 212.41]	-0.23	NS
				Control – CUS	-400.19	[-640.93, -159.45]	-3.26	0.001
				Fluoxetine – CUS	-371.86	[-612.60, -131.13]	-3.03	0.002
Time spent immobile, s	2.00	2.95	NS					
Time spent top, s	2.00	34.81	<0.01	Control – Fluoxetine	41.10	[-6.39, 88.59]	1.70	NS
				Control – CUS	139.13	[91.64, 186.61]	5.74	< 0.001
				Fluoxetine – CUS	98.03	[50.54, 145.51]	4.05	< 0.001
Number of top entries, n	2.00	2.74	NS					
Latency to enter top, s	2.00	17.99	<0.01	Control – Fluoxetine	-31.44	[-94.75, 31.88]	-0.97	NS
				Control – CUS	-131.20	[-194.52, -67.89]	-4.06	< 0.001
				Fluoxetine – CUS	-99.77	[-163.08, -36.45]	-3.09	0.002
Light-dark test								
Time spent light, s	2.00	0.41	NS					
Number of light entries, n	2.00	0.53	NS					
Shoaling test								
Average interfish distance, cm	2.00	10.02	0.01	Control – Fluoxetine	0.09	[-0.17, 0.34]	0.67	NS
				Control – CUS	0.39	[0.14, 0.64]	3.01	0.003
				Fluoxetine – CUS	0.30	[0.05, 0.56]	2.35	0.019
Distance to surface, cm	2.00	3.39	NS					
Zebrafish tail immobilization test								
Time spent active, s	2.00	0.40	NS					
Neurochemical analysis								
Dopamine, pg/mg	2.00	0.76	NS					
DOPAC to dopamine ratio	2.00	0.43	NS					
DOPAC, pg/mg	2.00	1.75	NS					
5-HIAA, pg/mg	2.00	17.69	<0.01	Control – Fluoxetine	0.84	[0.37, 1.30]	3.52	< .0001
				Control – CUS	-0.05	[-0.52, 0.41]	-0.23	NS
				Fluoxetine – CUS	-0.89	[-1.35, -0.42]	-3.75	< 0.001
5-HIAA ro serotonin ratio	2.00	10.82	<0.01	Control – Fluoxetine	0.89	[0.30, 1.47]	2.98	0.003
				Control – CUS	0.27	[-0.38, 0.93]	0.82	NS
				Fluoxetine – CUS	-0.62	[-1.15, -0.08]	-2.27	0.023
Serotonin, pg/mg	2.00	3.09	NS					
HVA to dopamine ratio	2.00	3.58	NS					
HVA, pg/mg	2.00	3.21	NS					
Norepinephrine, pg/mg	2.00	1.05	NS					

GZLM1 analysis for the zebrafish tail immobilization test found a statistically significant effect of the week and week and group interaction for time spent in the active state, without statistically significant effects on the GZLM2 (Fig. 8 and Tables A.1-A.5 in the appendix). 5-HIAA and 5-HIAA to serotonin ratio showed statistically significant changes as a result of exposure in the interaction factor of the week and group in the neurochemical analysis of GZLM2, with statistically significant intergroup differences at 2-4 weeks on the Tukey post-hoc test (Fig. 9 and Table A.1-A.4 in the appendix). Neurochemical analysis of GZLM2 found a statistically significant effect of group factor on 5-HIAA

level and 5-HIAA to serotonin ratio, with significant differences between the fluoxetine group versus the other two groups on the Tukey post-hoc test (Fig. 9 and Table A.5 in the Appendix).

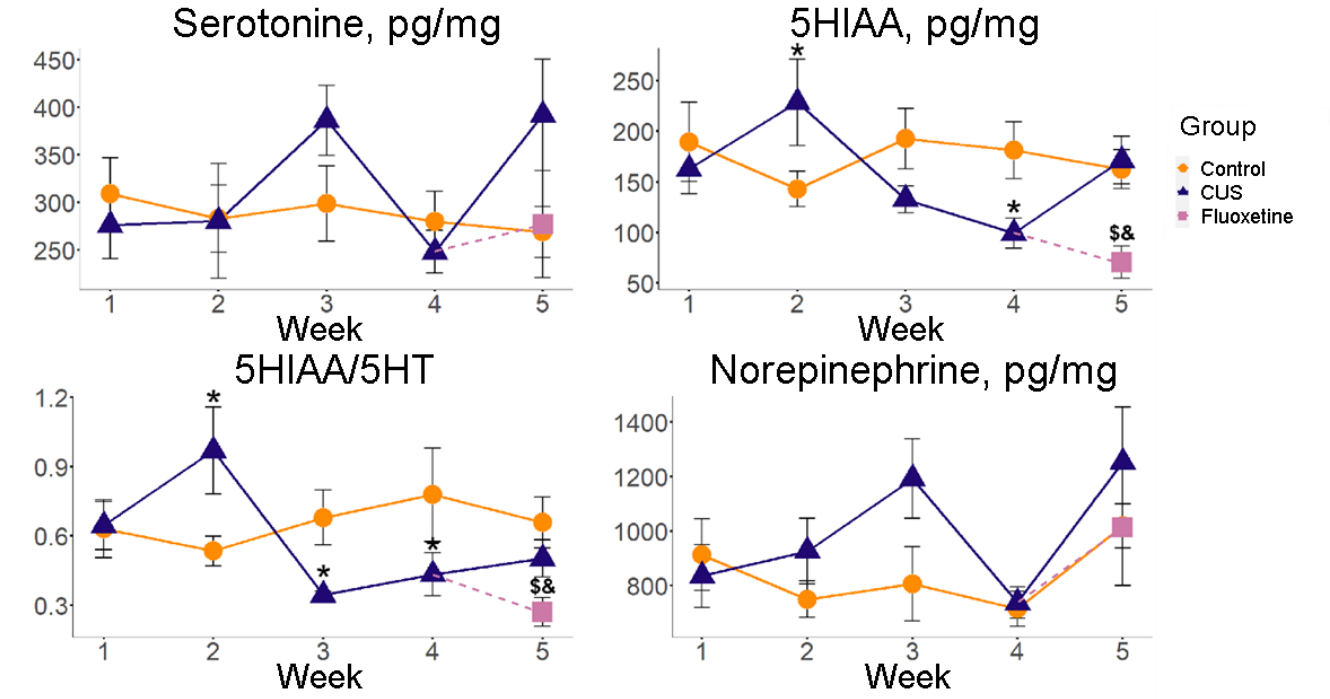

Fig. 9. Dynamics of neurochemical changes induced by CUS and fluoxetine in the whole brain samples *Danio rerio* [192]. Data are presented as mean ± standard error of the mean (n = 10), *p<0.05 stress versus control (GZLM1), #p<0.05 stress versus control (GZLM2), $p<0.05 fluoxetine versus control (GZLM2) post-hoc Tukey test for statistically significant differences according to Wald-test (ANOVA type II). See also Tables A.1-A.5 in the appendix for statistical details. 5-HIAA - 5-hydroxyindoleacetic acid

Analysis of the transcriptome by RNA sequencing revealed 196 genes (130 decreased and 66 increased) differentially expressed in the stressed group versus the control group (Fig. 10 and 11 and Table A.6 in the appendix). The transcriptome study identified 196 genes that changed their expression (130 decreased and 66 increased) in the stress group relative to the control group (Fig. 10 and 11 and Table A.6 in the appendix), as well as 49 genes (34 decreased and 15 increased expression) in the fluoxetine group versus the control group. 35 genes (25 down and 10 up) were presented simultaneously in both analyzes (CUS and fluoxetine versus control group), probably representing the CUS genes that were resistant to antidepressant treatment (Fig. 10 and 11 and Table A.6 in the Appendix). Also, a

comparison of the fluoxetine and control groups revealed 18 genes that changed their expression (3 decreased and 15 increased) of which 9 (2 decreased and 7 increased) were found to be differentially expressed (but in the opposite direction) in the analysis of the stress group versus control, probably representing a set of genes whose expression was disrupted as a result of exposure to the CUS and completely recovered after exposure to an antidepressant.

Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) (Appendix Table A.7) revealed 87 pathways in the Gene Ontology (GO) database and 10 pathways in the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database enriched in the CUS group versus the control group, that formed 13 key GO and 8 KEGG sets. Compared to the control group, the fluoxetine treated group had 68 GO and 6 KEGG pathways grouped into 9 GO and 5 KEGG sets. GSEA analysis of the fluoxetine-treated group against the CUS group revealed 19 GO and 3 KEGG pathways grouped into 7 and 3 sets, respectively. Graph analysis aimed at identifying proteins and genes potentially important as therapeutic targets has identified key hubs of molecular networks, such as *tpm4b*, *isg15*, *stat1b*, *mov10b.1*, *CABZ01073795.1*, *mxa*, etc., in the CUS model and when exposed to fluoxetine (Fig. 10 and 11, Table 9 and Table A.6 in the appendix).

Finally, as shown in Fig. 12 qPCR analysis confirmed the RNA sequencing results reported earlier (Fig. 12, Appendix Table A.8). Thus, *isg15* statistically significantly decreased expression both in the stress group and in the fluoxetine group versus the control group, *tpm4b* expression was increased in the CUS group compared to the control group, *saga* expression was decreased in the CUS group versus the fluoxetine group, and *otx5* was decreased in the CUS group against the other two groups (Fig. 12, Table A.8 in the appendix).

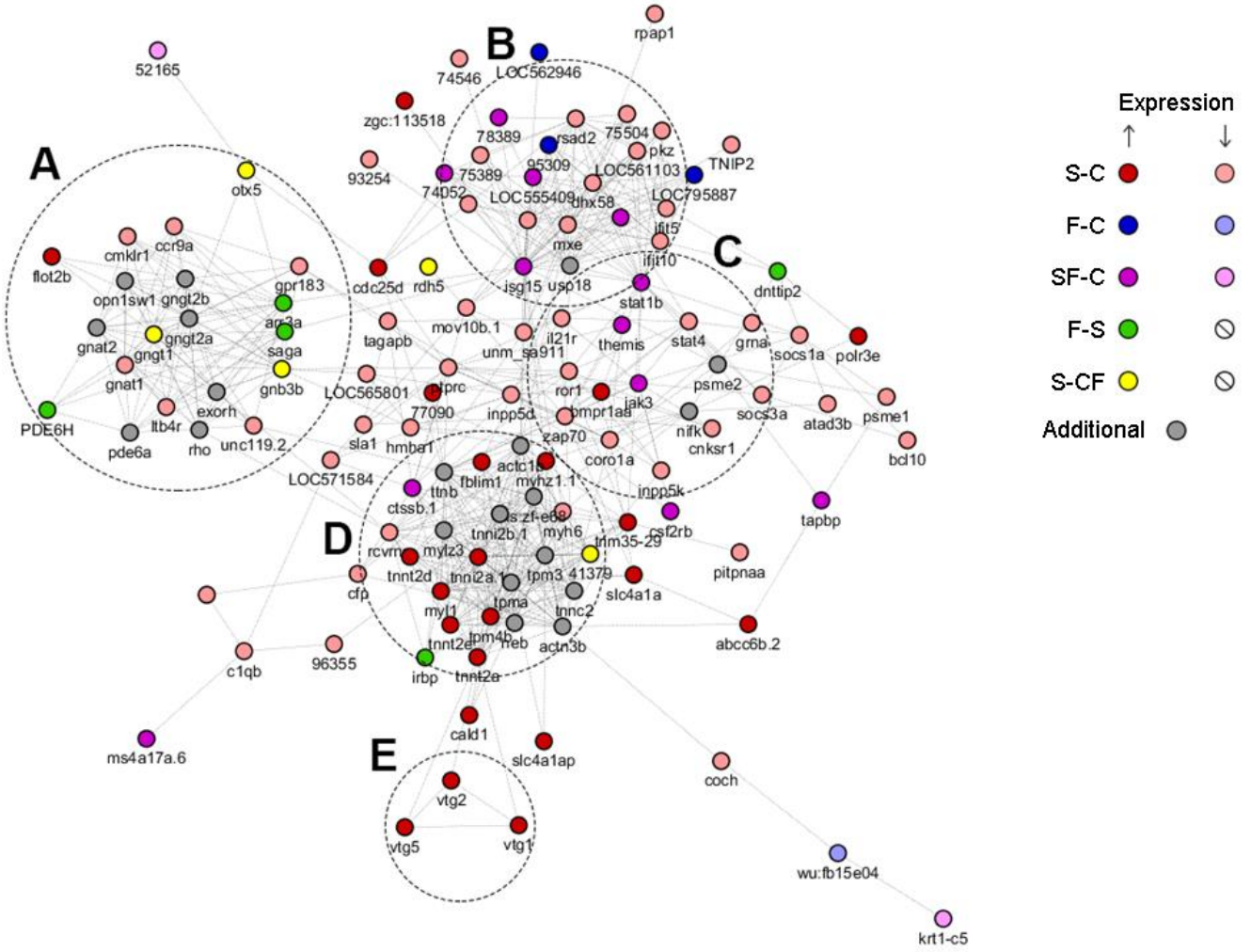

Fig. 10. Network of protein-protein interactions of all genes differentially expressed in research, constructed using the STRING database [192, 317]. Genes with numbers in the name correspond to the last 5 numbers in "ENSDARG000000 *", the gene number according to Ensembl. S-C - CUS versus control, F-C fluoxetine versus control, SF-C - differentially expressed in S-C and F-C (in the same direction), F-S - fluoxetine against stress, S-CF - differentially expressed in S-C and F-S (in opposite directions, color in the direction of F-S), Additional - 20 proteins with the highest interaction rank according to STRING. The main gene clusters are highlighted in Latin letters; A - arrestins and GPCR associated genes, B - ubiquitin-associated genes and their inflammatory modifiers, C - transcription factors associated with inflammation, D - cytoskeletal proteins and proteins associated with motility, E – vitellogenins

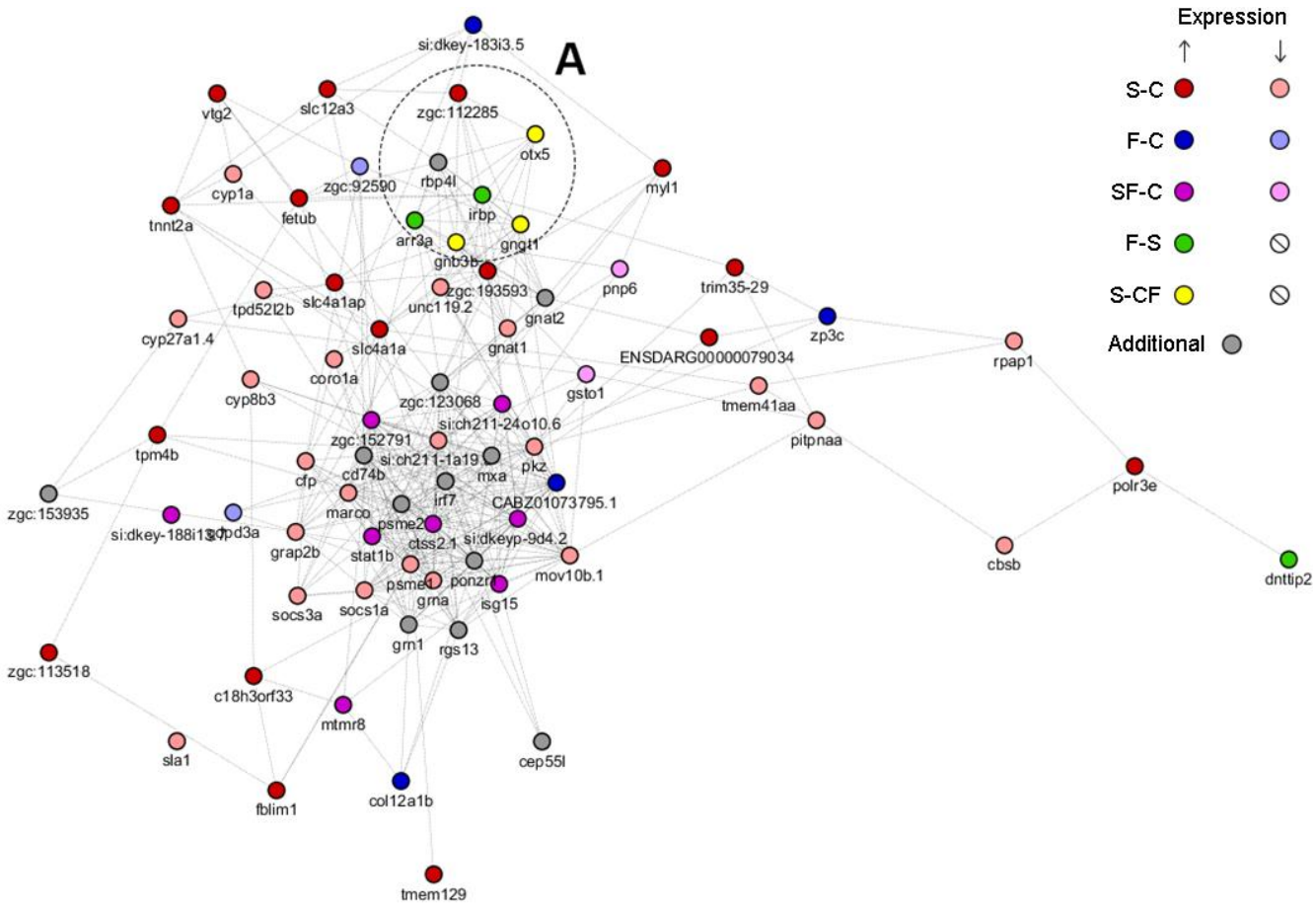

Fig. 11. Co-expression network of all genes differentially expressed in research, constructed using the GeneMania database [192, 322-324]. S-C - CUS versus control, F-C fluoxetine versus control, SF-C - differentially expressed in S-C and F-C (in the same direction), F-S - fluoxetine against stress, S-CF - differentially expressed in S-C and F-S (in opposite directions, color in the direction of F-S), Additional - 20 proteins with the highest coexpression rank according to GeneMania. A - co-expressed genes from the comparison of fluoxetine versus CUS.

Table 9. 10 vertices with the highest values of endpoints of graph theory according to DMNC || MNC, degree and bottleneck, see Methods section for analysis details) for constructed molecular networks of protein-protein interactions (PPI; String database) and gene co-expression networks (GE; Gene Mania database), see also the Methods section and Figures 10-11 for more information on the networks [192].

Name	**DMNC**	**MNC**	**Name**	**Degree**	**Name**	**Bottleneck**
STRING (PPI)						
tpm4b	0.81	23	isg15	32	isg15	31
tnni2b.1	0.96	20	ttnb	29	actc1b	24
myh6	0.87	20	actc1b	28	ttnb	22
tnnc2	0.84	20	stat1b	26	saga	11
tnni2a.1	1.00	19	tpma	25	trim35-29	10
mylz3	0.88	19	tpm3	24	stat1b	9
ns:zf-e68	0.83	18	tpm4b	23	ENSDARG00000004953	9
neb	0.96	17	actn3b	23	myhz1.1	9
tnnt2a	0.98	16	myl1	21	ptprc	7
tnnt2d	0.94	15	usp18	21	arr3a	7
GeneMANIA (GE)						
mov10b.1	0.82	24	*CABZ01073795.1*	36	*mxa*	13
cd74b	0.78	24	*mxa*	28	*CABZ01073795.1*	11
stat1b	0.77	24	*isg15*	25	*si:ch211-1a19.3*	10
si:dkeyp-9d4.2	0.75	23	*stat1b*	25	*slc4a1a*	10
ctss2.1	0.73	23	*si:ch211-1a19.3*	25	*irbp*	7
isg15	0.91	22	*irf7*	24	*cd74b*	6
ponzr1	0.90	22	*psme2*	24	*irf7*	5
psme2	0.86	22	*mov10b.1*	24	*ctss2.1*	5
zgc:152791	0.75	22	*cd74b*	24	*si:ch211-24o10.6*	5
irf7	0.91	21	*si:dkeyp-9d4.2*	24	*grap2b*	5

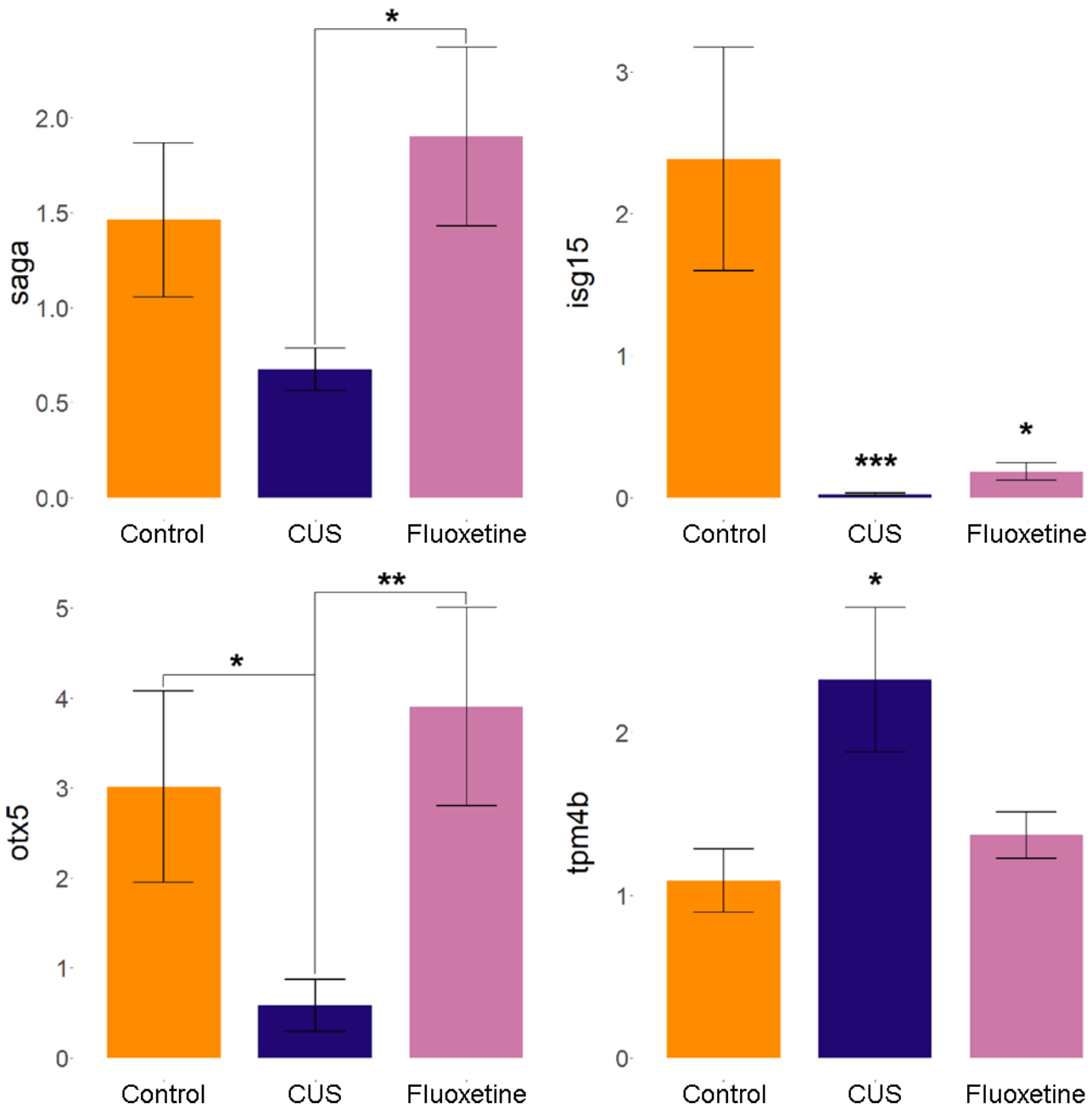

Fig. 12. Results of quantitative real-time PCR of *Danio rerio* whole brain samples exposed to CUS or CUS and fluoxetine [192]. *p <0.05, **p<0.01, ***p<0.001 between corresponding groups connected by the lines or relative to the control group, according to Dunn's post-hock test for pairwise comparisons of statistically significant KW-test data (see also Table A.8).

2.3 Discussion

Chapter 2 is the first study to investigate the dynamics of behavioral and neurochemical changes induced by the CUS model and its pharmacological treatment by exposure to chronic fluoxetine, using

a wide range of tests related to anxiety, social behavior, and behavioral despair in zebrafish adults. Also, a study of transcriptome changes in the 5-week CUS was carried out, the main disturbances in the molecular networks of differentially expressed genes were determined, as well as their correction after exposure to an antidepressant.

The behavioral results in Chapter 2 can be summarized as follows: CUS leads to severe anxiety (decreased water surface exploration), which is the most consistent behavioral effect throughout testing (Fig. 8, Table 7, Tables A.1-A.4 in the appendix). At the same time, the LDT test was insensitive to the anxiety-related behavioral changes at 4-5th weeks, supporting its lower sensitivity relative to the NTT described earlier [173, 186]. In the ZTI test, activity was decreased at 1st week, but increased at 3rd week and remained unchanged in the remaining weeks (Fig. 8 Table 7, Tables A.1-A.4 in the appendix), which suggests a complex interaction between CUS, behavioral despair, and anxious behavior in *Danio rerio*, similar to the observed variability in behavioral despair in rodents [117, 119, 121, 122]. In conclusion, schools of stressed zebrafish had a higher density (expressed in the closer mean distance between fish), which corresponds to the disturbing anxiety-related phenotype observed in NTT and was reported earlier in other stress models [143, 158, 164, 171, 186].

Chronic exposure to fluoxetine reversed most of the observed behavioral phenotypes of CUS, highlighting its anxiolytic and antidepressant effects observed in clinical and rodent studies (Fig. 8, Table 8, Table A.5 in the appendix). It should be noted that significant differences were observed in the behavior of control fish over time (Fig. 8), which is probably due to external environmental factors outside the control of the researcher, for example, atmospheric pressure, which, however, should have had the same effect on the control and experimental groups. These changes are in line with the earlier reported daily variability in *Danio rerio* behavior [218, 229, 325], thus emphasizing the validity of this work.

Neurochemical analysis (Fig. 8, Tables 7,8) indicates the role of the serotonergic system in the CUS in zebrafish, which is similar to the serotonergic effects of the CUS in rodents [40, 45, 46] and the

role of serotonin in human affective pathologies [326-329], which suggests the possibility of evolutionary conservative serotonergic mechanisms of chronic stress in vertebrates. In this study, a decrease in the level of the serotonin metabolite 5-HIAA and the ratio of 5-HIAA to serotonin at 3-5 weeks were found, as well as their increase at 2 weeks. The ratio of 5-HIAA to serotonin is a common biomarker of serotonergic activity in the central nervous system, reflecting the activation of serotonergic neurons, the release of serotonin from the presynaptic cleft, and its subsequent metabolism [330, 331]. Interestingly, the data are in good agreement with the earlier reported decrease in 5-HIAA levels on day 15 of the CUS [332]. Thus, the decrease in 5-HIAA and the ratio of 5-HIAA to serotonin, arising from the second week of modeling of the CUS, is an important observation that suggests that shorter models (for example, 1-week) may not be sufficient to model the necessary pathological changes in the serotonergic system.

Similar to the transcriptome study performed in this work, the neurochemical study used whole-brain samples (rather than specific regions of the brain), which may represent a less sensitive approach for studying changes in these systems, which underlines the need for further zonal studies of changes in CUS.

Many studies of CUS in *Danio rerio* have shown an increase in anxiety due to the use of a 2-week or longer protocol [145, 158, 163, 164, 332], similar to this work. However, some researchers have not observed the development of an anxiety phenotype [333], raising the question of the correct use of the technique in these works (see also [223] to discuss the issue of reproducibility and reliability of data in zebrafish models). Thus, further studies are needed comparing the effectiveness of different CUS protocols, which would differ, for example, in the number of stressors, their severity, and duration.

Transcriptome analysis performed in this chapter using several techniques revealed major changes in gene expression associated with CUS and antidepressant exposure (Fig. 10-11, Table A.6 in the appendix). Summarizing the results of the analysis, CUS caused pronounced changes in the expression of genes of whole-brain *Danio rerio*, altering the expression of genes associated with

pathways of inflammation and cytokines, signaling pathways of mitogen-activated protein kinase (MAPK), and receptor tyrosine kinases such as signal transduction and activator of transcription (*stat*) *1b* and *4*, interleukin 21 receptor (*il21r*), *rsad2* (radical S-adenosyl methionine domain-containing protein 2), Janus kinase 3 (*jak3*), zeta-chain-associated protein kinase 70 (*zap70*) , suppressor of cytokine signaling (*socs*) *1a* and *3a*, receptor tyrosine kinase-like orphan receptor (*ror1*), a thymocyte-expressed molecule involved in selection (*themis*), and altering the corresponding pathways/gene sets (*GO: 0004713 protein tyrosine kinase activity; dre04010 MAPK signaling pathway*; Figure 10-11, Appendix Tables A.6-7). Similar to past research, changes have been found in genes and gene sets associated with IFI6/IFI27 [333].

Moreover, CUS led to an increase in the expression of cytoskeletal genes and genes associated with cell motility, such as myosins (light chain 1 and heavy polypeptide 1.1 and 6) and troponins (T2a, T2d and 2a.1), also disrupting the expression of genes associated with the activity of ubiquitin, for example, of the interferon-stimulated gene 15 (*isg15*; ubiquitin-like modifier), ubiquitin E3 ligases (*si:dkey-40c23.2*) and other related genes (*zgc:163136* ubiquitin-protein transferase; Fig. 10-11, Table A.6 in the appendix). Importantly, these ubiquitin-linked genes interact closely with various interferon-linked genes and *isg15* interacts and co-expresses with many other genes, representing the most pronounced hub gene in the CUS molecular networks (Fig. 10-11). Stress also decreased the expression of the *dre04744 Phototransduction gene set* (see below), and disrupted the expression of genes associated with the endocrine system (especially steroid hormones), increasing, for example, the expression of vitellogenins *vtg1-2,5* (see below). CUS has also had a significant effect on pathways associated with RNA processing, including GO:*0006397 mRNA processing*, *GO:0003735 structural constituent of ribosome*, *dre03010 ribosome*, and *dre03040 spliceosome and cell metabolism*, *GO:0009199 ribonucleoside triphosphate metabolism*, *dre01200 carbon metabolism*, *dre00010 ribosome/gluconeogenesis*, and *dre00983 drug metabolism/other enzymes*.

In contrast, fluoxetine normalized the expression of most of the genes associated with CUS, retaining differential expression of only 35 of 196 CUS genes, which are mainly central inflammatory genes associated with cytokine activity, for example, *isg15*, *stat1b*, *jak3* (Fig. 10 -11, Table A.6 in the appendix). Similarly, the expression of most of the gene sets was restored after exposure to fluoxetine, while some retained altered expression, for example, pathways associated with RNA function *dre03010 Ribosome*, *dre03040 spliceosome*, *GO:0034660 ncRNA metabolic process*, *GO:0003735 structural constituent of ribosome and metabolic pathways*, *dre01200 carbon metabolism*, *GO:0009144 purine nucleoside triphosphate metabolism*, *GO:0019752 carboxylic acid metabolism* (Appendix Table A.7). Moreover, the expression of *GO: 0006955 immune response* decreased, possibly indicating a decrease in the expression of cytokine-related pathways in zebrafish exposed to fluoxetine.

To better understand the effects of fluoxetine on the treatment of the pathogenesis of the CUS, the fluoxetine and CUS groups were also compared, identifying 18 differentially expressed genes, 9 of which were earlier detected in the analysis of the CUS against the control group, thus confirming the effect of gene expression restoration by fluoxetine. Analysis of protein-protein interaction networks shows that most of these genes are closely interconnected and form a sub-network that includes homolog of orthodenticle 5 (*otx5*), arrestin 3a (*arr3a*), c-antigen (*saga*), and G-protein genes coupled receptors (GPCR) (*gngt1*, *gnb3b,* and *gpr183a*).

Inflammation is considered an important factor in affective pathogenesis [334-338]. Complementing clinical data, animal models associated with inflammation are widely used to model affective pathologies [25]. Previously, it was shown that the 5-week CUS protocol used here leads to the development of changes in the levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines, which are corrected after fluoxetine exposure [163]. Similarly, in this study, CUS induced changes in the global expression of brain genes associated with inflammation, while fluoxetine recovered most of these changes to the control group levels (Fig. 10-11, Appendix Table A.6).

The role of sex hormones, especially estrogens, in the pathogenesis of depression is widely discussed in the scientific literature [339-342]. In fish, vitellogenin acts as an important biomarker of endocrine disorders, which is especially sensitive to the effects of estrogens [343, 344]. Changes in the expression of vitellogenins *vtg1*, *-2*, and *-5*, as well as an increase in expression in the *GO:0005179 hormone activity*, *GO:0000003 reproduction*, and other pathways, indicate the presence of endocrine disturbances in zebrafish subjected to CUS, suggesting a contribution endocrine disorders in the pathogenesis.

Interestingly, CUS also strongly (l2fc = 8.4) increased the expression of adhesive GPCR G4b (*adgrg4b*), while fluoxetine restored its expression to the level of the control group (Fig. 10-11, Table A.6 in the appendix). Adhesive GPCRs (aGPCRs) are a poorly understood group of proteins that are involved in both cell adhesion and signaling, thus serving as a possible target for pharmacological effects [345]. Although the physiological role of aGPCRs remains poorly understood, some have already been shown to play a role in various brain diseases [346]. For example, mice with a deleted *Adgrb2* gene have reduced depression-like behavior and increased cell proliferation in the hippocampus [347].

Arrestins are a small family of highly homologous adapter proteins that regulate the transmission of information through the GPCR, maintaining their internalization and directing activation along with G-protein independent (for example, Src tyrosine kinase or MAPK-associated) pathways [348-350]. Studying the activity of arrestins is an extremely important task because most modern ligands activate G-protein or arrestin-related pathways with varying efficiency [351]. Arrestins are also an interesting target for the treatment of affective pathologies [352], since leukocytes of depressed patients have a reduced expression of beta-arrestin-1, while antidepressant exposure increases its expression in rats [353], as well as human [354]. Moreover, beta-arrestins can modulate the activity of the serotonergic system, including the activation of ERK1/2 by serotonin 2A (5-HT_{2A}) receptors [355]. Also, serotonin and 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI) have been shown to induce head-twitching behavior in mice (hallucinogenic-like effect) through various mechanisms (beta arrestin-2 dependent and

independent, respectively), which indicates the existence of ligand-dependent discrimination between GPCR signaling types in the serotonergic system [355].

It is also important that the biological function of arrestins depends on their ubiquitination and deubiquitination, which determines the effectiveness of receptor internalization, as well as the fate of the arrestin-receptor complex and the cascades activated by them [356]. Likewise, ubiquitination plays a role in antidepressant activity [357]. For example, citalopram, imipramine, desipramine, and moclobemide increase the expression of the beta-arrestin-2 gene in rat C6 glioma cells but decrease the level of this protein due to rapid ubiquitination, which promotes jerking of the protein in the proteasome [357]. Accordingly in this work, altered expression of genes and gene sets associated with the activity of ubiquitin and arrestins (for example, *isg15*, *dre04744 Phototransduction*) in the CUS group was found, with a slight increase in the expression of two arrestins (*saga*, *arr3a*) and related pathways (*dre04744 phototransduction*, *GO: 0007601 visual perception expression*) after exposure to fluoxetine (Fig. 10-11, Appendix Table A.6). Overall it further emphasizes the role of arrestins and the mechanisms of their ubiquitination in affective pathogenesis and the action of antidepressants, which has high translational significance for future research in this area.

Finally, the results showed that chronic unpredictable stress induces complex behavioral and neurochemical changes that develop over time during 5-week modeling. While some phenotypes, such as the novel tank test anxiety, remain fairly stable throughout the study, others, such as ST behavior, behavioral despair in ZTI, and serotonin metabolism, change throughout the modeling. Transcriptomic analysis revealed altered expression of genes associated with inflammation, the expression of which was partially restored after exposure to fluoxetine. Likewise, fluoxetine effectively reversed most of the behavioral and neurochemical abnormalities, further validating the model. This work confirms the important contribution of neuroinflammatory processes, structural changes in neuronal networks (through cytoskeleton proteins and adhesion), as well as the regulation of GPCR signaling using arrestins and ubiquitins, both in stress-affective pathology and in the mechanism of their treatment.

Chapter 3 Translational analysis of brain transcriptome in affective pathogenesis in zebrafish, rats, and humans

3.1 Methods, animals, and equipment

56 Wistar rats (males 1.5-2.5 months old) were obtained from the center of the Laboratory Animal Nursery, the Center for Preclinical and Translational Research (Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russia). Before testing, the rats were kept under standard conditions (20–22 ° C, 55% humidity, food and water ad libitum, 12:12 h, day:night cycle). All rats belonged to the same population and were randomly assigned to experimental groups using a random number generator (https://www.random.org/). All experimental manipulations with rats were approved by the ethical commission of the Institute of Experimental Medicine of the Almazov National Medical Research Centre (20-14П3#V2). All animals tested were included in the totals without exception and all planned analyzes are presented in this study.

Rodents are widely used to model the pathological states of the central nervous system, including stress-induced pathologies, due to the high homology of the key mechanisms of the stress response between rodents and humans. The Wistar line was chosen in this work as one of the most studied and widely used in biomedical research [358], and also, because the results obtained using this model are well reproducible [358], well reproducing, among other things, the population variability necessary for adequate comparison of data with clinical. Only males were used in this work because there is a pronounced sexual effect in studies of the effects of chronic stress in rats [359-361], as well as the high influence of the menstrual cycle on the behavior of female rats [362], which could negatively affect the results.

The Chronic unpredictable stress

Danio rerio the Chronic unpredictable stress (CUS) protocol modeling protocol is described in Chapter 2, and also presented published in the articles [192]. Rats were exposed to the CUS for 12 weeks with various stressors daily [363, 364], including the stress of crowding, unfamiliar objects, flashing

lights, deprivation of food and water, shaking, forced swimming, exposure to novelty, change of day, and night, presentation of a predator, social isolation and sleep deprivation (Tables A.9 and A.10 in the appendix). The duration of stress was selected based on previous studies of the effects of CUS in rodents [364].

Control rats were housed like the experimental cohort but remained experimentally naive throughout the study. On day 57, the stressed cohort was also divided into a group that continued to receive stress and a group that, in addition to the protocol, received the antidepressant fluoxetine for the final 4 weeks of the study at a dosage of 5 mg/kg by oral administration of 0.5 ml of distilled water with a syringe. Fluoxetine (Biocom, Stavropol, Russia) is a widely used antidepressant [269-271], often used in biomedical research and models, including studies in rodents [272-275]. Duration of antidepressant exposure was selected based on previous CUS model studies [161, 365]. Animals from all groups were tested in the same number for two days. On each day, the animals were tested under similar conditions and euthanized using the same procedure.

Behavioral testing

A brief confirmation of the development of affective pathology after exposure to the CUS protocol, as well as the potential for pharmacological correction of the observed phenotype, was determined in the elevated-plus maze (EPM). Before testing, rats (n = 17-20) were placed for 2 hours in the testing room for acclimatization and returned to the containment room immediately after testing. Testing was conducted from 10 am to 5 pm and was recorded using an SJ4000 action camera (SJCAM, Ltd., Shenzhen, China) at 60 frames per second. Behavioral testing as well as statistical analysis and video processing were carried out in a blinded manner. EPM apparatus [366] consisted of 4 gray sleeves connected in the shape of a cross (50 length × 14 width, cm) (OpenScience) placed on a cart 55 cm high. Two "open" sleeves had edges 1 cm high, and walls were located along the edges of the "closed" sleeves 30 cm high. The apparatus was illuminated with 65 W lamps aimed at the open arms (400 lux), while the lighting in the room and closed arms was weak (30 lux). As part of testing, animals were placed in

the central part of the EPM (at the intersection) in the direction away from the experimenter. The behavior was recorded for 5 minutes and then analyzed manually using the RealTimer program, with an estimate of the time (sec) and the frequency of entries into the "open" and "closed" arms [366].

Clinical data

Human transcriptome data were obtained from open sources [367], collected by Douglas Bell Canada Brain Bank (DBCBQ, Douglas Mental Health Institute, Verdun, Québec), and uploaded to NCBI BioProject under number PRJNA398031. Subjects (male, n=3 for the subiculum (base of the hippocampus), n=4 for the prefrontal cortex, average age 45) were Europeans of French Canadian descent and died quickly without prolonged agony [367]. The diagnosis of Major Depressive Disorder was made using the Diagnoses were obtained using Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-IV (DSM-IV) using the DSM-IV Structured Clinical Interview for Axis 1 Disorders. (The Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders; SCID-I) [368] adapted for psychological autopsy [367]. Original research [367] also included many people who committed suicide in the control group (not diagnosed as depressive) and depressed people taking antidepressants, who were excluded from this in-silico analysis due to possible misdiagnosis and possible influence of antidepressants on the transcriptome.

RNA-sequencing

The experiment used adult *Danio rerio* (n=6, sex ratio 1: 1), as well as male Wistar rats (n=3), which underwent the CUS protocol according to the methodology in Chapter 2 [192] and Chapter 3 [193], respectively. RNA sequencing procedures were performed according to Chapter 2 and published articles [192, 193, 367]. The procedures of euthanizing and harvesting *Danio rerio* brain tissue are described in Chapter 2. Rat brain samples were collected for transcriptome analysis without pooling (1 brain per sample) the day after behavioral testing from 9:00 to 19:00. An interval of 1 day was chosen in this work to reduce possible immediate transcriptome effects from behavioral testing or manipulation of animals [192]. Rats for RNA sequencing were randomly selected using a random number generator

(https://www.random.org/). Rats were rapidly euthanized in an inhalation anesthesia chamber (SomnoSuite, Kent Scientific, Connecticut, USA) using 5% isoflurane, and their brains were removed on ice, followed by dissection of hippocampal tissue according to the Waxholm Space atlas [369] and cryopreserved in liquid nitrogen for further analysis. Isolation of RNA was carried out using Trizol (Evrogen JSC, Moscow, Russia), following the manufacturer's instructions. RNA quality was assessed using Quantus (Promega Corporation, Madison, USA), electrophoresis, and QIAxcel (QIAGEN, Venlo, Netherlands). Sequencing was performed on Illumina HiSeq2500 (Illumina Inc., San Diego, USA) with 140 base pairs (bp) paired-reads (*Danio rerio*) and Illumina HiSeq4000 with 151 bp paired-reads (rats) with no less than 20 million reads generated for each sample. Human samples from related research [367] used the dorsolateral prefrontal cortex (Brodmann Zones 8/9; dlPFC) and the ventral subiculum (vSUB), which were carefully removed at 4 °C after cryopreservation in isopeptane at -80 °C by highly trained pathologists using reference neuroanatomical maps [367, 370, 371]. Similar to experiments with animals, RNA was isolated using Trizol, following the manufacturer's instructions [367]. Samples were sequenced at 50 bp by pair-reads on Illumina HiSeq2500 (Illumina Inc., San Diego, USA) with no less than 50 million reads generated per sample after 2 sequential sequencing procedures [367].

Statistical analysis and data handling

In this Chapter, generalized linear models (GZLMs) were used to analyze the Elevated-plus maze (EPM) behavioral data in the same way as [192]. GZLM is a widely used method of statistical analysis [291-293], allowing the data to have a distribution other than normal, which allows it to be used for the analysis of both parametric and nonparametric data [290-292, 295, 296]. To compare the experimental groups, Wald's chi-square analysis of variance (ANOVA, type II) was performed for the obtained GZLM (Table A.11 in the Appendix) with Tukey's post-hoc test for pairwise comparisons of statistically significant data according to Wald's test. To take into account the possible effect of the testing day on the model, the factor of the day, the group, and their interactions were used to create the GZLM. However, in the following, only the results of the group effect are discussed, following the objectives of

the study. To select the optimal distribution (goodness of fit) of the GZLM and the link function for each parameter, the levels of the Akaike information criterion (AIC) were determined [297, 298] for the Gaussian distribution (identity link), Poisson distribution (log link), Gamma distribution (inverse and log links) and Inverse Gamma distribution (inverse and log links), choosing the model with the lowest AIC level (indicating that the model is most likely to be the most suitable for analysis) [299], similarily to Chapter 2 and [192]. The GZLM, Wald chi-square, and Tukey tests were analyzed using the R program [300] and the p-value was set to <0.05 in all of these tests.

RNA sequencing data for human subiculum and prefrontal cortex samples were taken from the NCBI BioProject open-access database, under the number PRJNA398031 [367]. Only brain samples from men who did not take drugs (in both groups), and only men without a diagnosis of Major Depressive Disorder by psychological autopsy (control group), who died of natural causes or as a result of an accident (but not suicide), were used, having eventually n=3 for subiculum samples and n=4 for the prefrontal cortex. Reads were mapped to the genome of zebrafish GRCz11, rats Rnor_6.0, and human GRCh38 using RNA STAR [302] and further processed using featureCounts [303] (usegalaxy.org [372]). For interspecies comparison of transcriptome data, 4 different approaches (summarized in Fig. 13) were used, implemented using the programming language R [300], Bioconductor package [304], and DESeq2 package [305]. The differential gene expression analysis package was chosen in this work as a tool that is effective for analysis of less than 12 and is stable even within the fold change threshold of 0.5, and also because the results of this approach are consistent with other popular tools such as EdgeR, Limma, and EBSeq [192, 306]. All genes, the sum of the counts of which was less than 10 for all samples studied in the experiment, were removed from the subsequent analysis. Differential gene expression analysis was performed using the DESeq function. The resulting p-values were corrected using the Benjamini-Hochberg correction. The p-value and false discovery rate (FDR) value were set to 0.05 in all these analyzes unless otherwise stated.

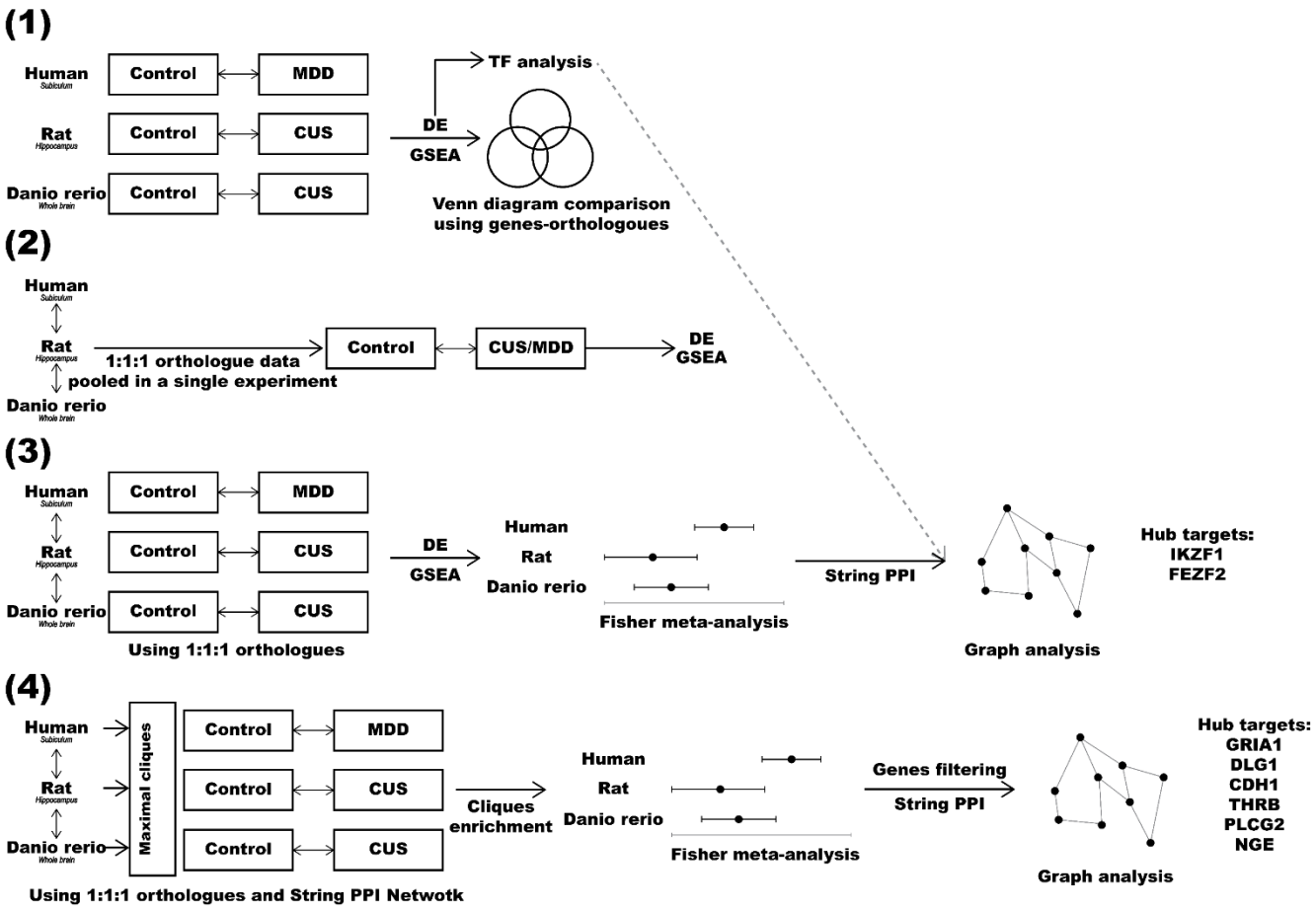

Fig. 13. Outline of experimental designs used in this chapter [373].

The Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) is widely used to analyze the expression of genes combined in sets, allowing better identification of certain transcriptome changes [307-310]. However, the classic GSEA has some limitations, including the impossibility of comparing groups of different sizes and the use of complex experimental designs [311]. The generally applicable gene set enrichment (GAGE) analysis is a subtype of GSEA designed to resolve these constraints [311], which is also statistically superior to the classical method [311]. Gene sets from the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database were used to analyze enrichment on normalized and log2 transformed counts using the GAGE package [311], using a two-sample Student's t-test to compare groups for differential enrichment of gene sets. In various experiments, both positively and negatively regulated, as well as bidirectionally regulated (in absolute terms of expression) sets with FDR set at 0.05 were used.

Experiment 1 compared lists of differentially expressed genes and enriched gene sets obtained for each species in separate analyzes. Briefly, the resulting counts resulting from mapping to genomes GRCz11 (n=6), Rnor_6.0 (n=3), and GRCh38 (n=3) were analyzed independently using the DESeq2 and GAGE functions comparing the CUS or MDD group with the corresponding control groups (FDR <0.05, Fig. 13). The resulting lists of genes differentially expressed for each species were further compared between species using gene orthologs obtained by the HomoloGene function in R [374] and the Venn diagram. The lists of the enriched sets obtained were also compared using the set names in KEGG. Additionally, the representation of DNA sites for binding of transcription factors (TF) in genes of high variability (p values <0.01 according to DESeq2) and low variability (p>0.7) was analyzed using the CiiiDer TFMs program for each species [375] (only TF with p<0.05 for the statistical significance of the gene coverage and the number of distribution of binding sites simultaneously were considered statistically significant). The resulting lists of differentially represented TFs were also compared between species.

In Experiment 2, an interspecies comparison of stress groups (CUS/MDD) versus control groups was performed in a pooled form using readings that were mapped to human ortholog genes before differential analyses (Fig. 13). The approach was proposed on the basis that the hypotheses in the studied experiments are closely interconnected (they consider the effects of affective pathology on the transcriptome of the brain of vertebrates), which makes it possible to combine RNA sequencing data into a single experiment that considers the effect of affective pathology on the transcriptome of common gene orthologs (based on human genes) in vertebrates. All counts were mapped 1:1:1 to human orthologous genes using HomoloGene, yielding a list of 10353 genes shared by zebrafish, rats, and humans and 24 samples (n=12), which were then compared as a single CUS and MDD pooled group versus single control pooled group using DESeq2 and GAGE (FDR <0.05).

Experiment 3 used an interspecies comparison of the effects of CUS (or MDD) versus control samples using counts mapped to human orthologs before differential analysis, which were further

analyzed in individual differential gene expression experiments and GSEA for each species and then compared using a meta-analytical interspecies approach (Fig. 13). The possibility of using this approach was also associated with the close connection of hypotheses in individual experiments with each other (the effects of affective pathology on the transcriptome of the brain of vertebrates are considered), which makes it possible to use meta-analytical methods. Similar to the approach in Experiment 2, the counts were mapped 1:1:1 to human orthologous genes and then analyzed using DESEq2 for each species separately. Then, the resulting 3 individual species DESEq2 analysis results were compared further using Fisher's meta-analysis method [376] and the metaRNASeq package in R [377]. Genes statistically significantly altered by the Fisher test (FDR<0.05) were further selected based on the unidirectional changes in gene expression in the experimental groups relative to the control in all three species. The design of this experiment reproduces well other recent studies devoted to the meta-analysis of the results of RNA sequencing in closely related species (for example, studies of the transcriptome of microalgae *Dunaliella* [378]). As part of Experiment 3, a Protein-Protein Interaction (PPI) network was also created using the STRING database for *Homo Sapiens* [317] using TFs obtained in Experiment 1 and differentially expressed genes (according to the results of meta-analysis) from Experiment 3, obtaining the largest set, consisting of 67 vertices. For the construction of the network in STRING, the minimum interaction level was set at 0.15 and all types of interaction were used, except text-mining. The resulting PPI was further processed using the CytoScape graph analysis software [379] CytoHubba package [318] to identify hub-genes using metrics such as degree, bottleneck, betweenness, and DMNC||MNC (see Graph Analysis). Among the 10 proteins and TFs that received the best assessment according to these indicators, those with changes of expression in opposite directions between species were excluded to determine the hub genes with evolutionarily conserved expression profiles.

Experiment 4 performed an interspecies comparison of the enrichment of Maximal Cliques (MCs) in the CUS (and MDD) groups, versus controls in the network of protein-protein interactions using the OmicsNet databases [380] and STRING [317], based on counts mapped to human orthologs

(network of 7933 proteins; Fig. 13) in different experiments for each species, which were then compared using meta-analytical methods. In the resulting PPI network using Cytoscape and the MClique plugin [379], 121219 MCs were identified, of which most were cliques consisting of ribosomal proteins (ribosomal cliques were identified as cliques containing genes S or L ribosomal proteins (RPS or RPL), the analysis of which was not the purpose of this study, therefore they were excluded from the list, and further analysis was performed on the remaining nonribosomal 21938 MCs (Fig. 14), which were further analyzed as gene sets using GAGE for each species, comparing the enrichment of the sets (in absolute terms) of MCs data in the CUS (or MDD) versus the control group. Analysis of MCs data in transcriptome studies is also a novel method that is actively gaining popularity [381-384]. The resulting enriched MCs were then compared between species using a meta-analytical approach to determine MCs with a conservative expression between these species, similar to the differentially expressed genes and enriched gene sets from Experiment 3. A new set was assembled from all genes in MCs statistically significantly altered in the meta-analysis (overall containing 253 different genes) and, as a pilot proof of concept, the enrichment of this set of genes was investigated using GAGE using the original studied data, as well as, additionally using the data of the prefrontal cortex of people with MDD, the hippocampus of the CUS rats after additional exposure to Fluoxetine for 4 weeks (see Chronic Unpredictable Stress section), as well as whole-brain CUS zebrafish, also exposed to fluoxetine for 1 week (see Chapter 2).

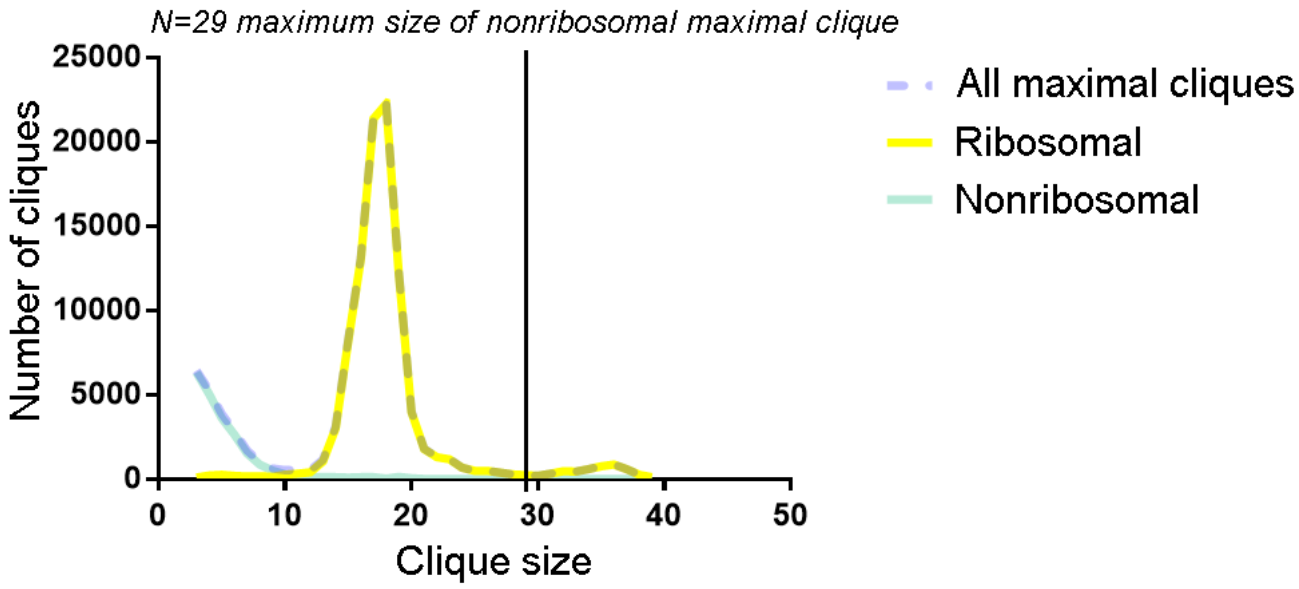

Fig. 14. Maximal cliques found in a network constructed from 1:1:1 gene orthologs human:rat:zebrafish using HomoloGene, STRING, and OmicsNet databases [373].

For further analysis, genes with different directions of changes in expression in the original experimental groups were excluded. Next, a network of protein-protein interactions was built from the remaining genes (45 proteins) and two approaches were used to identify the key proteins responsible for the pathology in this network. The first approach used graph analysis technology from Experiment 3, defining the degree, bottleneck, betweenness, and DMNC||MNC (see Graph Analysis) of vertices. The second approach used the ranking of gene expression using the degree of expression change in the logarithm of two, taking the 10 genes with the highest and lowest expression in the experimental groups relative to the corresponding control groups and then comparing the resulting lists, thus finding 6 genes that stably and highly changed their expression in all three species. Further, the effects of fluoxetine in the CUS of rats and *Danio rerio* were investigated similarly, and it was found that 5 of these genes are inversely (relative to the CUS) changed their expression after fluoxetine exposure, thus further confirming the observations.

The data were processed online and offline by an experimenter aware of group affiliation since all animals and samples were included in the analyzes, and the statistical processing of the data took

place impartially and automatically, and the experimenter had no opportunity to influence the results of the experiment. Experimental design, as well as its description, analysis, and presentation of data fully comply with the guidelines of Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE) and Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence (PREPARE) for planning, conducting and reporting research with animals.

Graph analysis

Graph analysis of protein-protein interaction (PPI) networks using gene expression data was performed using Cytoscape software for analyzing biological molecular networks of interactions version 3.8.0 [379]. The networks themselves were generated using the STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) database [317] (https://string-db.org). Then the networks were analyzed in the Cytoscape program using the cytoHubba application [318] to identify key vertices (hubs) by identifying the 10 vertices with the highest degree, bottleneck, betweenness, or using a Double Screening Scheme (DSS), combining the density of the maximum Density of Maximum Neighborhood Component (DMNC) and Maximum Neighborhood Component (MNC), similar to Chapter 2 and [192]. The degree of a vertex (node, protein) v was defined as the number of edges of a vertex v, i.e. represents the number of relationships a protein has with other proteins. The bottleneck of a vertex was determined using the betweenness centrality of a vertex, based on the calculation of the number of shortest paths between a vertex passing through a given vertex [319]. The bottleneck proteins are likely important in the network, serving as bridges for interactions between other proteins [320]. The MNC of a vertex (node, protein) v was defined as the size of the maximum component of the subnetwork $N(v)$ constructed by the vertices adjacent to v. The DMNC of a vertex (node, protein) v was defined as $E/N\varepsilon$, where N is the number of vertices and E is the number of faces of MNC(v), and ε=1.7. The DSS was further calculated as follows: for the n most significant expected output proteins (n is an empirical value), $2n$ proteins were selected using DMNC (choosing the proteins with the maximum DMNC value). These proteins were ranked by

MNC value and the *n* proteins with the highest value were selected as the result. DSS (DMNC||MNC) method is effective for identifying important proteins in PPI networks [321].

3.2 Results

In the Elevated-plus maze test, the CUS protocol led to the development of a pronounced anxiety phenotype, thus confirming the successful modeling of affective pathology (Fig. 15, Tables A.11-A.13 in the appendix). It was found that CUS leads to a decrease in the time spent in the open arm, as well as a decrease in the frequency of transitions to the “closed” and “open” arms ($p < 0.05$, Tukey-test for ANOVA-significant data, based on the generalized linear model (GZLM); Fig. 15, Tables A.11-A.13 in the appendix). At the same time, the group exposed to fluoxetine did not have statistically significant differences from the control group in terms of these endpoints ($p > 0.05$) and statistically significantly spent more time in the “open” arms and entered them more often than the CUS group ($p<0.05$; Fig. 15, Tables A.11-A.13 in the appendix). There were no statistically significant differences in other indicators associated with the parameter, the group in GLM ($p > 0.05$; Fig. 15, Tables A.11-A.13 in the appendix).

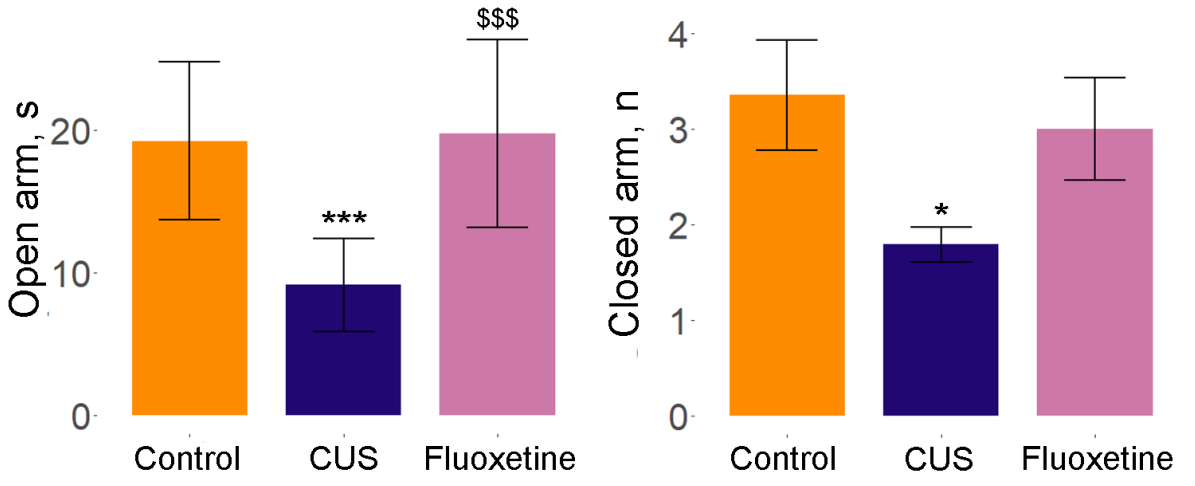

Fig. 15. Behavioral effects induced by the Chronic unpredictable stress protocol (CUS, 12 weeks) in rats and after additional exposure to the antidepressant fluoxetine during the last 4 weeks of CUS in the Elevated-plus maze test [373]. Data are presented as mean ± standard error of the mean (n = 17-20). *p<0.05, ***p<0.001 versus control, $$$p<0.001 versus CUS group according to Tukey's post-hoc test for pairwise comparisons of statistically significant Valda chi-square (χ^2) test (ANOVA type II) for data GZLM.

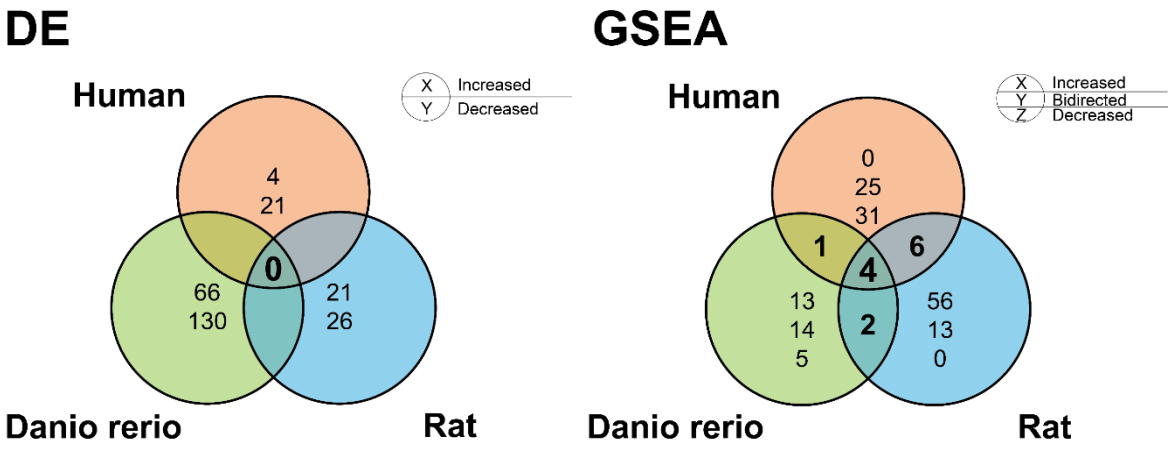

Fig. 16. Venn diagrams depicting differentially expressed genes (DE) and gene enriched sets (GSEA) in RNA sequencing data, comparing gene expression in the subiculum of people diagnosed with Major Depressive Disorder with healthy people, expression in the hippocampus of rats subjected to Chronic Unpredictable Stress (CUS) with a control group or whole-brain expression of *Danio rerio* exposed to CUS with a control group using 1:1:1 orthologs taken from HomoloGene (Experiment 1, see also Methods section) [373]. No common DEs were found and only a few common enriched sets.

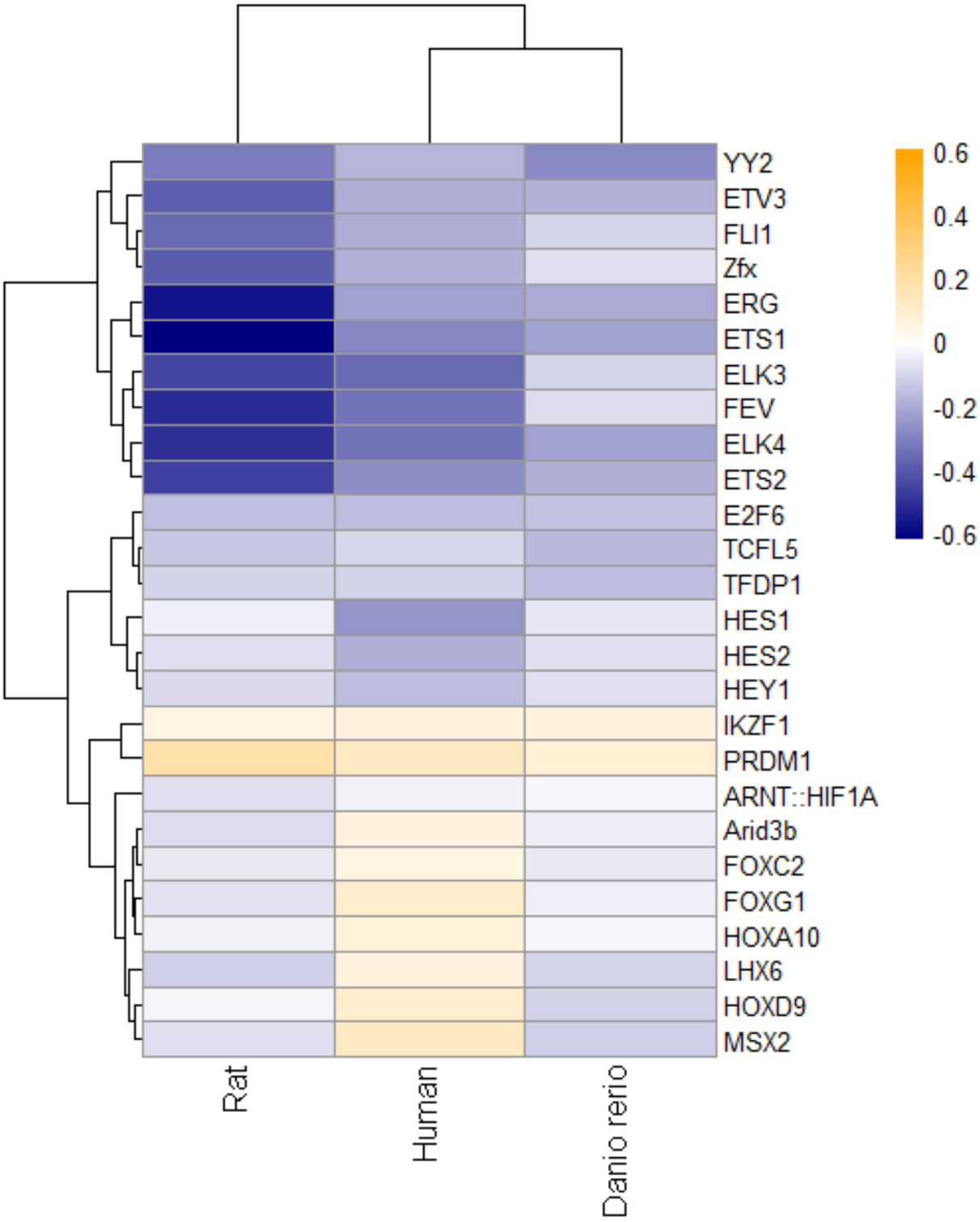

Fig. 17. Commonly enriched DNA sites for the binding of transcription factors (TF) in genes with high variability ($p<0.01$) vs. genes with low variability ($p>0.7$), using data from differentially expressed genes of humans, rats, and zebrafish and the CiiiDer TFMs software (Experiment 1) [375] [373]. TFs are presented in order of statistical significance ($p<0.05$). The data are presented as the value of the log2 enrichment, calculated according to the manual CiiiDer TFMs [375].

To analyze the gene expression data in Experiment 2, interspecies samples were pooled into one list of orthologous genes mapped using the HomoloGene database. No differences were found in the differential expression of these orthologs when comparing the group of CUS and MDD samples with a healthy control group (NS; p adjusted>0.05). The lack of statistically significant effects was not surprising due to the high heterogeneity of interspecies data, as evidenced by Principal Component Analysis (PCA; Fig. 18). In contrast to individual genes, GAGE analysis was more sensitive, revealing 91 enriched sets (Appendix Table A.19). Importantly, all sets from Experiment 1 were also found in Experiment 2. Moreover, of these 4 sets, 3 were the most significantly changed in Experiment 2, further confirming their close association with pathology.

Experiment 3, which explored the potential of using Fisher's meta-analysis to compare ortholog data, identified 15 differentially expressed genes in humans, 29 in rats, and 62 in *Danio rerio* (Tables A.20-22 in the appendix). A further meta-analysis of these data identified 66 genes differentially expressed in interspecies data, with 15 of them changing their expression in one direction in all three species as a result of the development of affective pathology (Fig. 19 and Table A.23 in the appendix). GAGE analysis revealed 24 enriched gene sets in humans, 42 rats, and 109 zebrafish (Tables A.24-A.26 in the appendix). Of these, Fisher's meta-analysis identified 112 pathways as enriched (Appendix Table A.27). Then, a network of protein-protein interactions was constructed from differentially expressed in meta-analysis genes (Experiment 3) and previously detected differentially presented TFs (Experiment 1), which turned out to be statistically enriched in the associations between proteins according to the STRING database (p = 8.31e-09) [317], which confirms that the two experiments are in parallel (Fig. 20). After ranking all vertices of a given network by degree, bottleneck, betweenness, and DMNC||MNC (see Graph Analysis), vertices were selected that were simultaneously highly rated in at least two methods, and then proteins were excluded whose genes had multidirectional expression in experimental

groups of different species (see Methods), thus obtaining 4 proteins found in Experiment 3 and 2 proteins found in Experiment 1 (IKZF1, FEZF2, VWF, FLI1, ARNT and ERG Fig. 19-20).

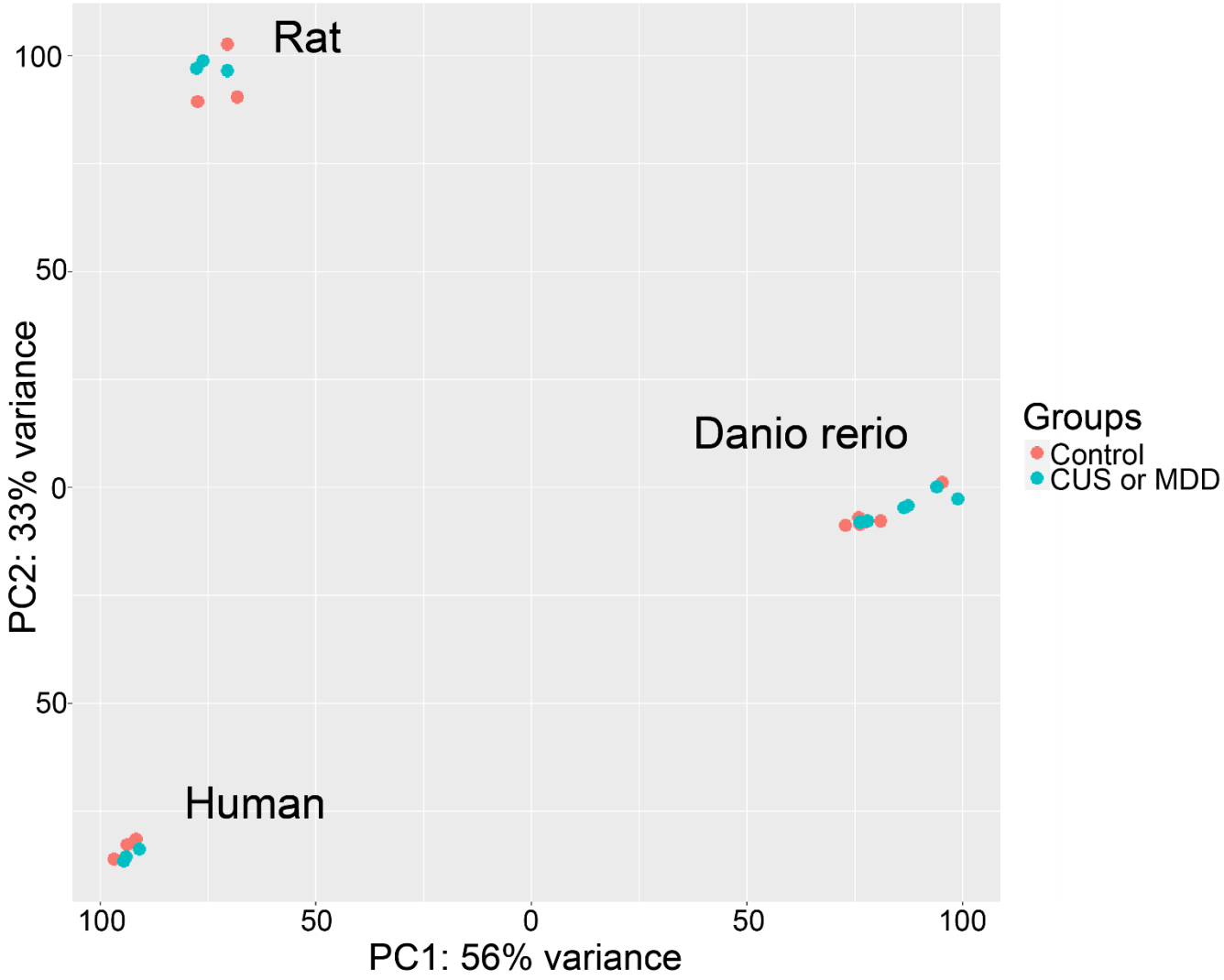

Fig. 18. Principal component analysis of the data of Experiment 2, which examined transcriptome data from different species combined in one experiment (CUS and MDD versus control groups) [373]. Note the high heterogeneity of these transcriptomes of different species, which makes direct comparison difficult.

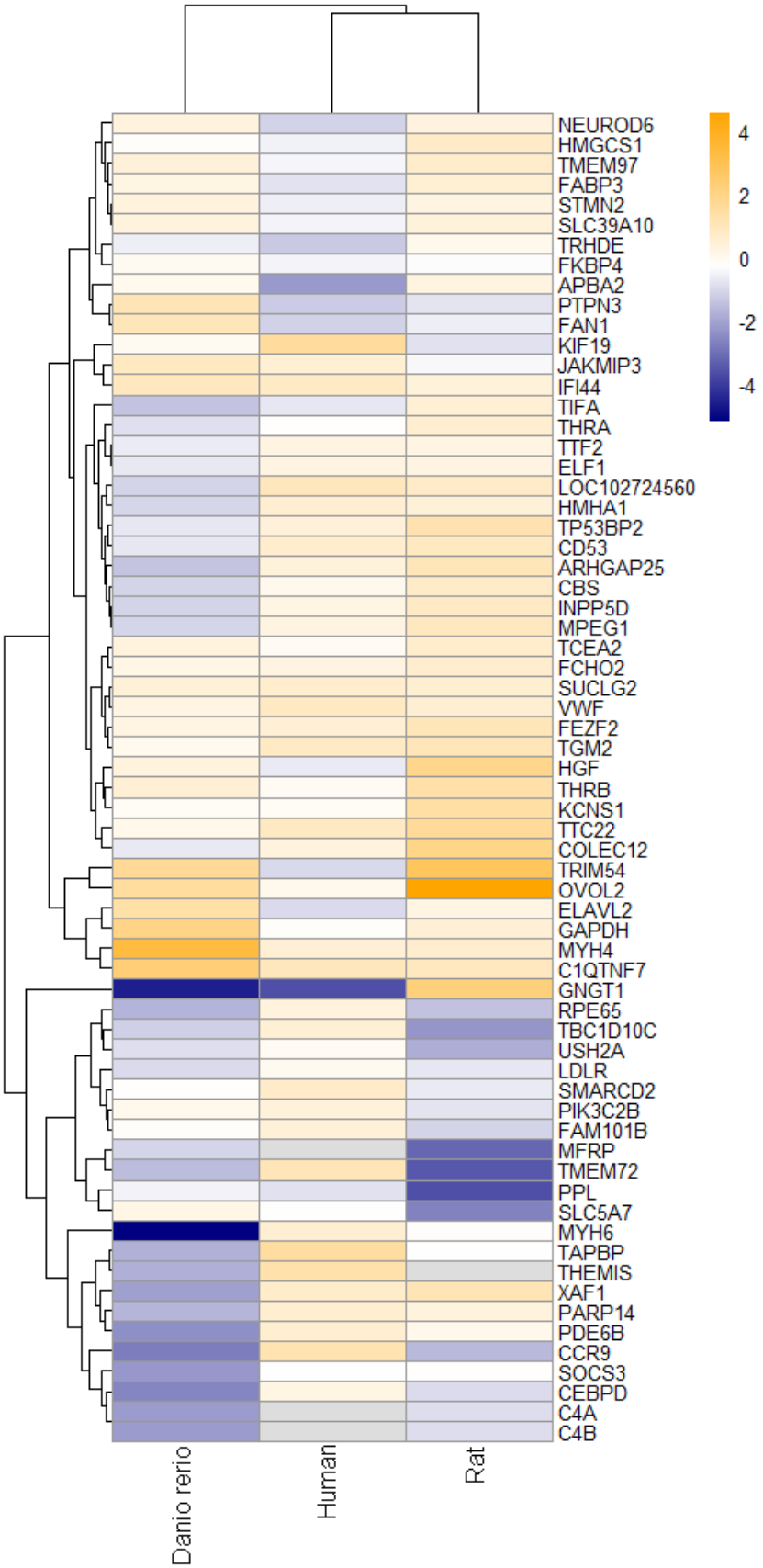

Fig. 19. Heat map shows log2-fold changes in expression of genes that were statistically significantly changed in Fisher's meta-analysis (Experiment 3) [373].

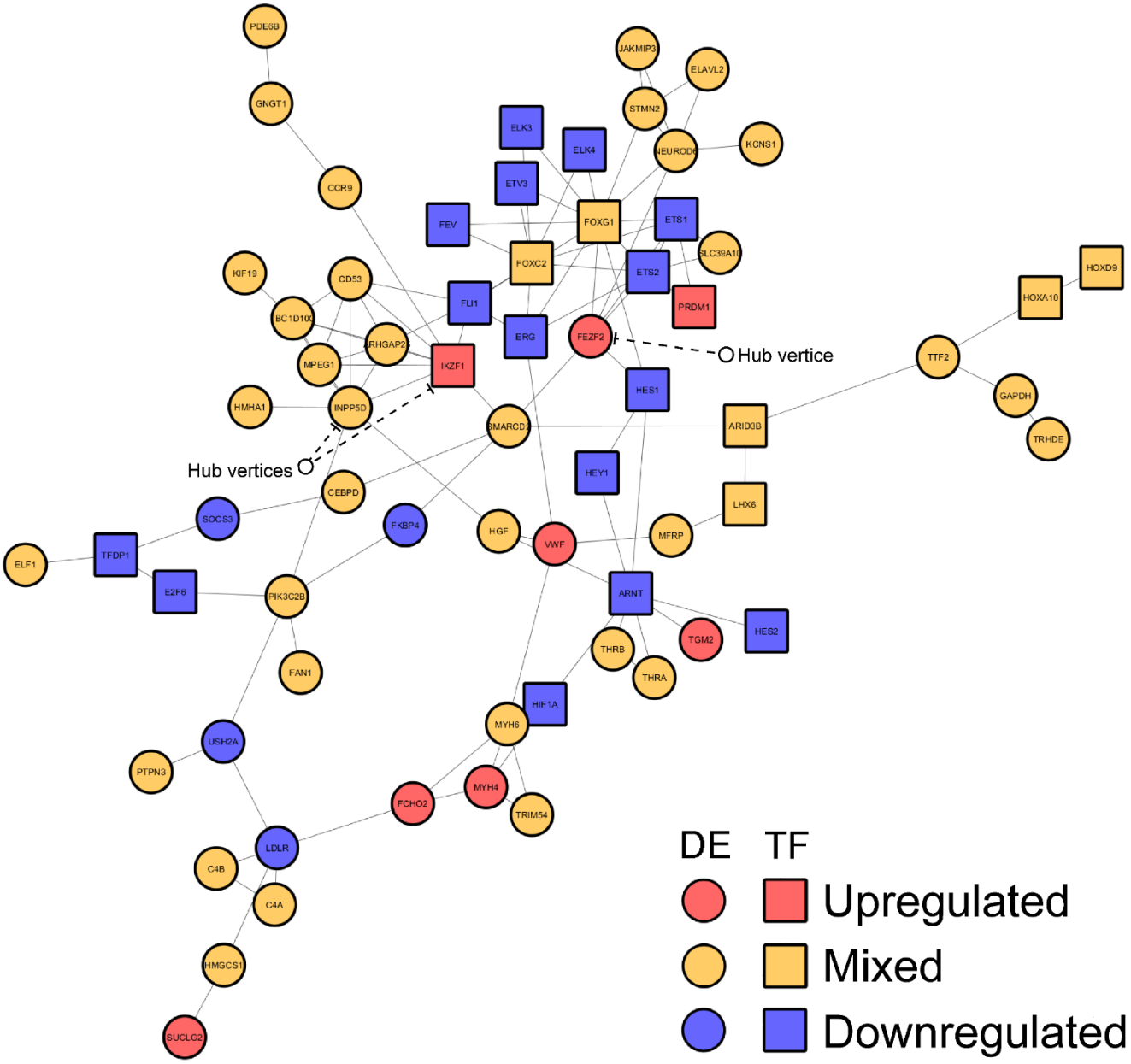

Fig. 20. Protein-protein interaction network constructed from genes differentially expressed in Fischer's meta-analysis in Experiment 3 and differentially represented transcription factors in Experiment 1 using the STRING database [317, 373].

In graph theory, a clique is such a subset of the vertices of a graph that every two of its vertices are connected (connected) by an edge, thus forming a complete subgraph [385]. Maximum cliques (MC) are graph cliques that cannot be extended by adding one more vertex, which means that MC is not a subset of the larger clique [386]. Using graph theory in Experiment 4, 121219 MCs were identified in

the protein-protein network of gene interactions of human, rat, and zebrafish orthologs, including 21938 nonribosomal MCs, with a maximum size of N=29, which were further analyzed using GAGE, for the enrichment of gene sets (in absolute value), which consisted of these cliques in each species, comparing CUS or MDD relative to their control group (Fig. 14; Table A.28 in the appendix). Further, Fisher's meta-analysis was used, which determined 257 MCs as statistically significant changing in their expression in three species, while the data of 257 MCs consisted of 253 unique vertices (Table A.29 in the Appendix). As a proof of concept, GAGE analysis was used on this set of 253 genes corresponding to these vertices. It was found that this set of genes is statistically significantly enriched (in absolute value) in the CUS and MDD groups against the corresponding controls in all three species (Fig. 21 and Table A.30 in the appendix). Moreover, this set was also enriched in the material prefrontal cortex MDD patients, but was less enriched after exposure to antidepressants, relative to the CUS group, both in zebrafish and in rats (Fig. 21 and Table A.30 in the appendix).

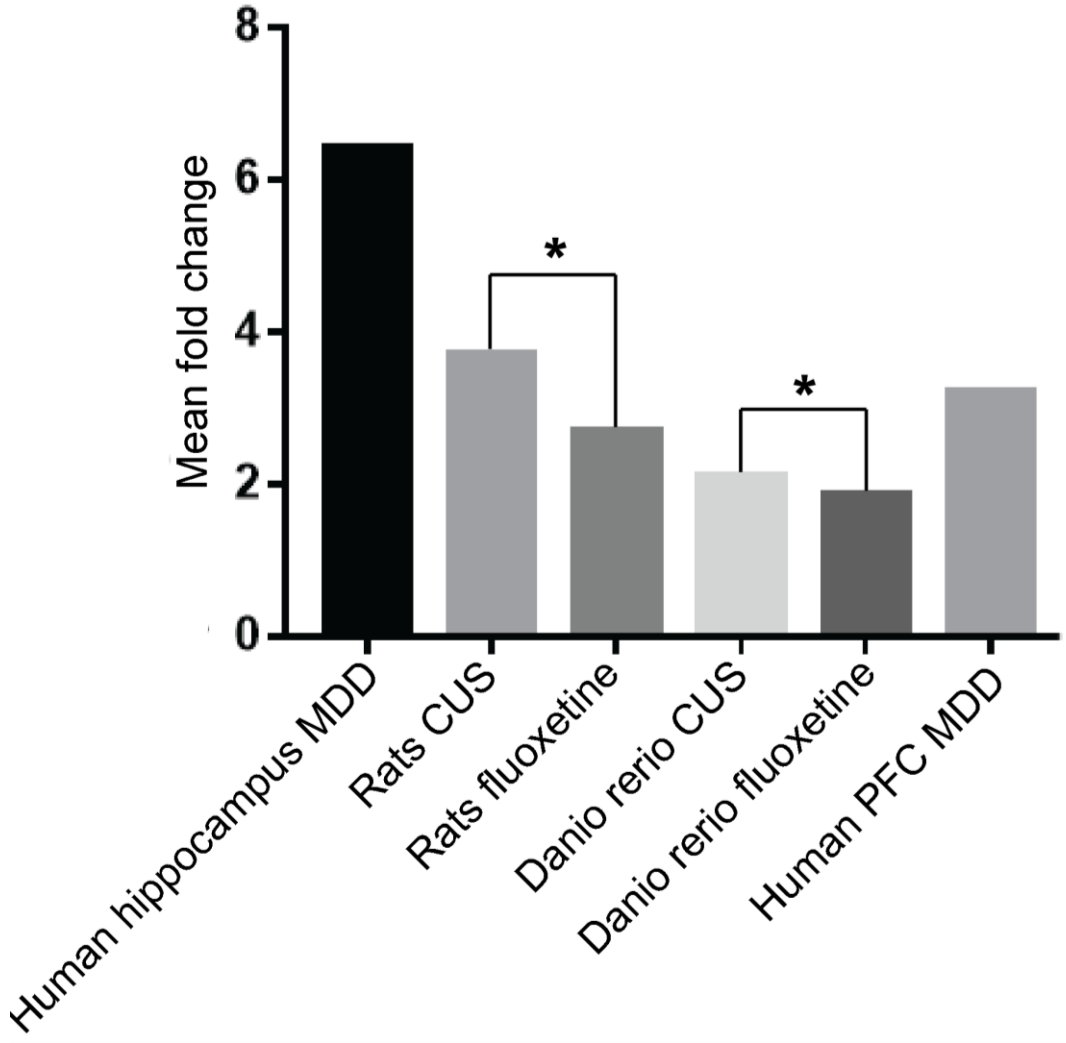

Fig. 21. Results from the Gene set enrichment analysis (GSEA) that compared a set of 253 genes selected based on Fisher's statistically significantly enriched maximal cliques (Experiment 4) [373]. All data are statistically significantly changed relative to the control group ($p<0.05$). *denotes the presence of a statistically significant difference ($p<0.05$) between the corresponding groups.

Further analysis was focused only on genes from this set, which changed their expression in a similar direction in the experimental groups of all three species (Fig. 22), from which a network of protein-protein interactions was created, consisting of 45 vertices, including 6 genes (*GRIA1*, *DLG1*, *CDH1*, *THRB*, *PLCG2*, and *NGEF*), which are most variable in all three species (Fig. 23). Five of these genes (excluding *NGEF*) were also highly variable in the groups exposed to fluoxetine (but in the opposite direction), also confirming their involvement in the pathogenesis and effects of antidepressants (Fig. 24).

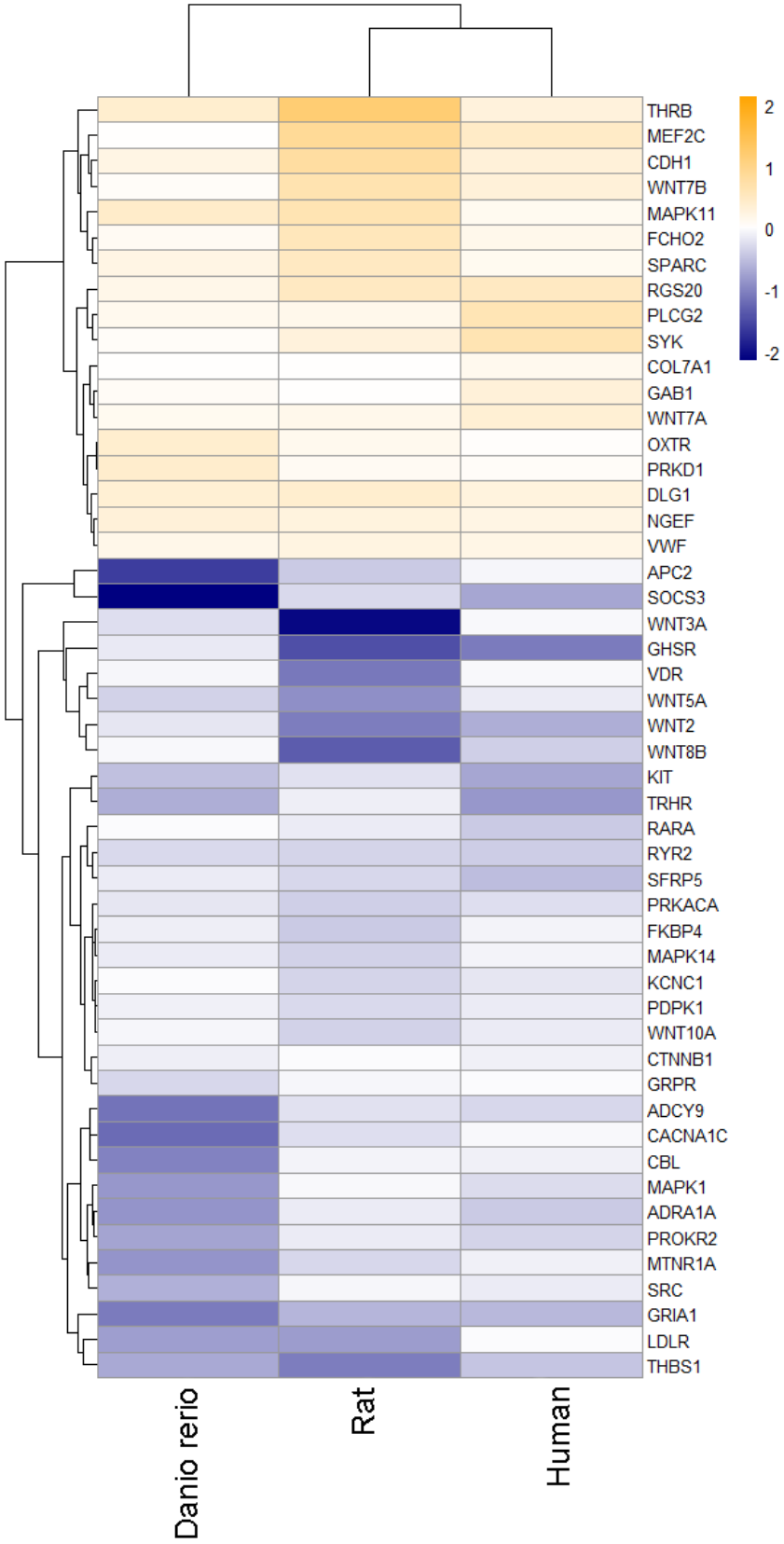

Fig. 22. Genes expressed in the experimental groups in the same direction relative to the control identified in Fisher's meta-analysis on maximal cliques enrichment data (Experiment 4) [373]. Data are presented as the log2-fold change.

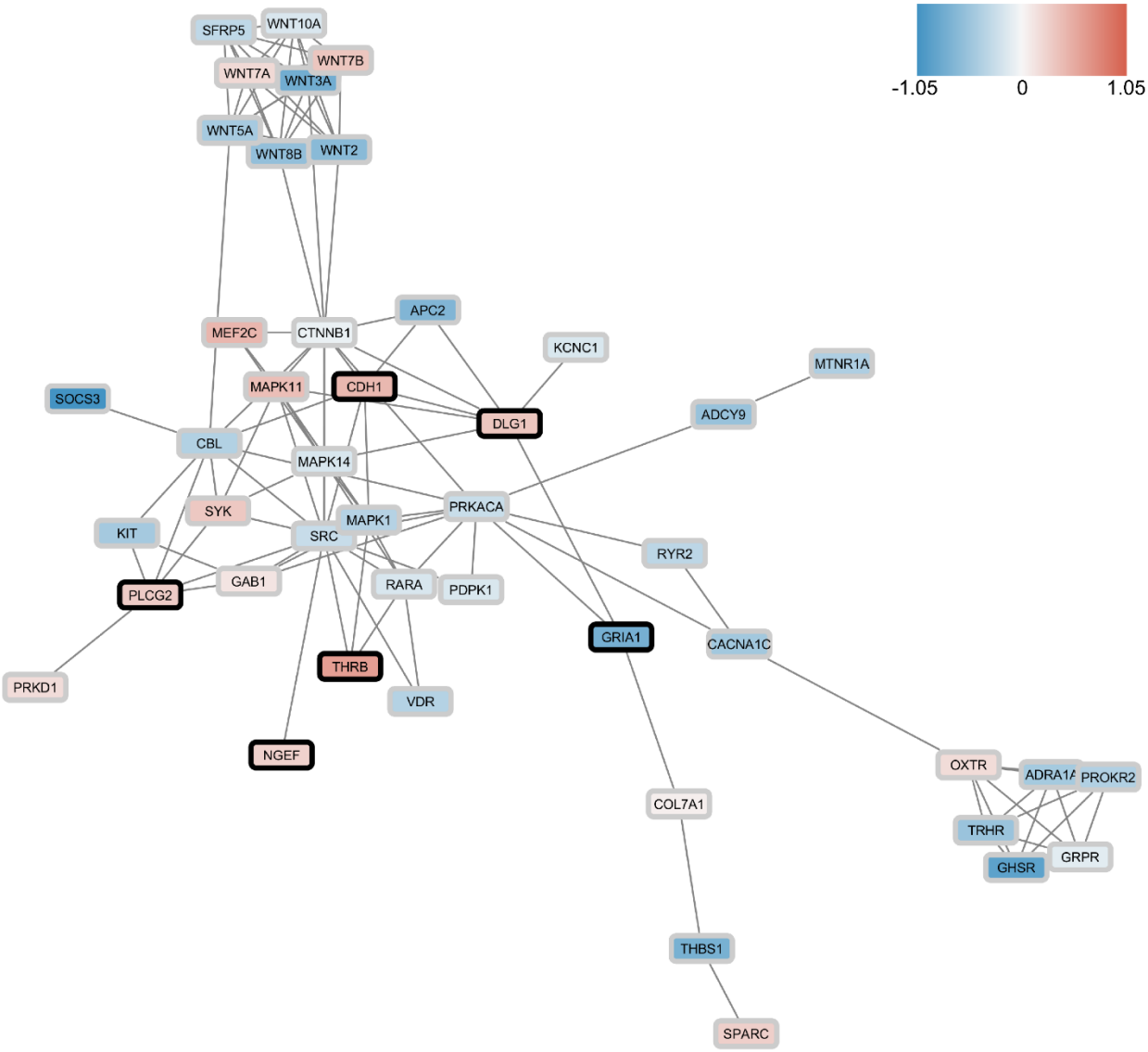

Fig. 23. Protein-protein interactions network generated from genes expressed in treatment groups in the same direction relative to control, identified in Fischer's meta-analysis of maximal cliques enrichment data (Experiment 4, Fig. 22) [373]. Data are presented as the mean rate of change in the logarithm of two between species.

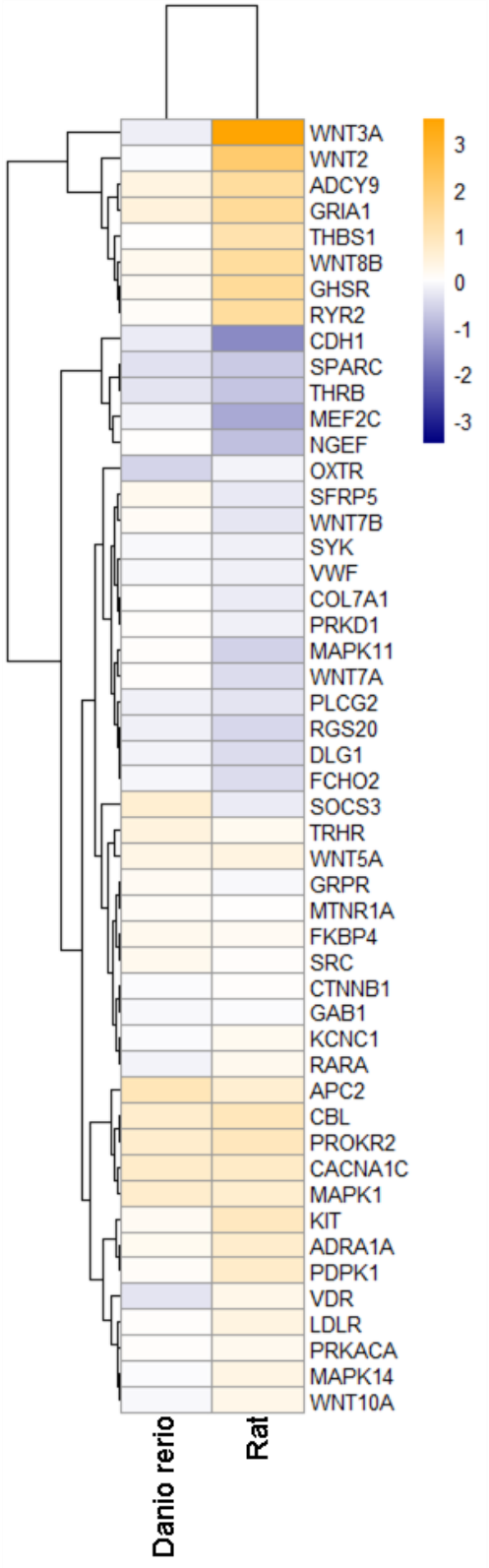

Fig. 24. Heat map representing the effects of fluoxetine on the expression of orthologues genes that were expressed in the experimental groups in the same direction relative to the control, as determined in Fisher's meta-analysis performed on the maximal cliques enrichment data (Experiment 4, Fig. 22) [373]. Data are presented as the log2-fold change.

In conclusion, analysis using graph theory identified several hub proteins (Table 10) that may also represent interesting targets. In general, this analysis suggests an important contribution of the wnt pathway, identifying several wnt proteins as hubs (WNT2, WNT3A, WNT7A and B, WNT8B, WNT10A), proteins that were also detected in other analyzes (GRIA1), hormone receptors (TRHR and OXTR), as well as other proteins (Table 10).

Table 10. 10 vertices with the highest values of indicators of graph theory according to DMNC || MNC, degree and bottleneck, see the Methods section for calculation details) for a constructed molecular network of protein-protein interactions (PPI; STRING database) based on Experiments 1 and 3 or Experiment 4 [373].

Name	**DMNC**	**MNC**	**Name**	**Degreee**	**Name**	**Bottleneck**	**Name**	**Betweenness**
1st PPI Experiment 1 (TF) and Experiment 3 (DE)								
IKZF1	**0.57**	**6**	**INPP5D**	**8**	**INPP5D**	**26**	**FEZF2**	**791.91**
CD53	0.57	6	ARNT	8	HGF	16	**INPP5D**	**756**
ARHGAP25	0.57	6	**IKZF1**	**8**	**FEZF2**	**15**	PIK3C2B	746.78
INPP5D	**0.65**	**5**	TBC1D10C	6	PIK3C2B	15	SMARCD2	639.68
TBC1D10C	0.65	5	CD53	6	SMARCD2	15	ARNT	626.43
MPEG1	0.65	5	ARHGAP25	6	**IKZF1**	**10**	**IKZF1**	**519.36**
FLI1	0.46	3	**FEZF2**	**5**	MYH6	10	LDLR	479.63
NEUROD6	0.31	3	PIK3C2B	5	ERG	10	HGF	455.06
STMN2	0.31	3	LDLR	5	ARNT	9	USH2A	436.33
FEZF2	**0.31**	**2**	NEUROD6	5	USH2A	8	NEUROD6	399
2nd PPI Experiment 4								
WNT8B	0.67	8	SRC	15	PRKACA	31	PRKACA	907.62
WNT3A	0.67	8	CTNNB1	12	SRC	11	CTNNB1	544.30
WNT2	0.67	8	PRKACA	11	CTNNB1	10	CACNA1C	456
WNT7A	0.77	7	CBL	9	CACNA1C	7	OXTR	390
WNT7B	0.77	7	WNT8B	8	OXTR	6	SRC	353.57
WNT10A	0.77	7	WNT5A	8	GRIA1	6	CBL	323.20
SFRP5	0.77	7	WNT3A	8	WNT8B	5	GRIA1	269.11
WNT5A	0.77	7	WNT2	8	CBL	5	COL7A1	168
MAPK11	0.41	7	MAPK14	8	GAB1	4	DLG1	161.54
TRHR	0.64	5	MAPK1	8	RARA	3	WNT5A	106.75

3.3 Discussion

This work is the first attempt at an interspecies analysis of changes in the brain transcriptome resulting from exposure to stress, using three model organisms important for neuroscience (humans, rats, and *Danio rerio*) to determine possible general mechanisms in the development of affective pathogenesis. This study also uses several new analytical methods (Experiments 2-4) proposed to solve the problem, as opposed to the more traditional method of comparing gene lists between species directly (Experiment 1). The most complex Experiments 3 and 4 use the method of preliminary mapping of genes of each species to genes-orthologues between humans, rats, and zebrafish, followed by meta-analyses of experimental data obtained from genes-orthologues for each species separately, turned out to be the most sensitive methods for determining evolutionarily-conservative molecular targets.

The most interesting targets with increased expression or representation as determined by Experiment 3 are FEZ family zinc finger-2 (*FEZF2*) and IKAROS family zinc finger-1 (*IKZF1*), both possessing the classic zinc finger Cys2His2-like group (zf-C2H2) [387] and 36.67% homologous to each other in protein sequences (estimated using the BLAST database (Basic Local Alignment Search Tool) [388]). In neurons FEZF2 and IKZF1 both function as important transcription factors that determine the cellular fate of neuronal progenitor cells [389]. FEZF2 is also involved in the processes of neuroplasticity and the process of neuronal signaling, which are also associated with the calcium signaling pathway, cell adhesion, and the interaction of neuroactive ligands with the receptor [390] and thus closely correlated with the results of the analysis of sets of KEGG genes in experiments (Fig. 16 and Tables A.16-19 in the appendix). FEZF2 also controls the expression of DNA binding proteins with a basic helix-loop-helix (HLH) structure [391, 392], such as neurogenins, neurogenic differentiation proteins (NEUROD), and ASCL1 orthologs, which are closely related HLH proteins that control neuronal fate (for example, control the switch between neuro- and glio-genesis) [387, 389, 393]. Interestingly, *NEUROD6* was also a differentially expressed gene in the present study, however, it did not have a stable expression pattern in experimental groups of different species (Fig. 19). Similarly, IKZF1 is

involved in the process of neuronal differentiation, including differentiation of cells expressing somatoliberin (GHRH) in the mammalian hypothalamus [389], and genetic knockout of *Ikzf1* in mice leads to the development of pronounced antidepressant-like behavior, as well as a decrease in the severity of the acoustic startle response, but unchanged anxious behavior in the elevated cruciform maze and in contextual conditioned fear [394]. Summarizing the above, literature data confirm the potential contribution of *IKZF1* and *FEZF2* as evolutionarily conserved candidate genes for the role of affective molecular biomarkers (Fig. 19).

This study also has some limitations. First, Fisher's meta-analysis was oversensitive to highly differentially expressed orthologues genes in individual species data (for example, *FEZF2* in rats), thus may not fully reflect evolutionary conservation, as suggested in this work. Also, whole-brain samples from *Danio rerio* were used in the work, but hippocampal data for rats and humans, which may make it difficult to compare data between species. Likewise, only males were used in the rat and human data but the zebrafish data are presented in a 1:1 sex mixed form. At the same time, the results of comparisons between species indicate relatively the same diversity between experiments, revealing a similar number of conserved genes/sets, and the analysis of the main components (Experiment 2) indicates a relatively equal distance between species along the PC1 and PC2 axes. Thus, the data obtained in the work indicate a relatively high validity of using mixed-sex and whole-brain zebrafish samples in this pilot work. At the same time, further research in this area may be needed to more reliably identify evolutionarily conservative targets. In conclusion, the use of the HomoloGene database to identify genes for orthologues between species also had certain limitations, since this database is updated manually, and not all gene orthologues between species are reflected in it at the moment. For example, an ortholog to the human *IKZF1* gene was not detected by HomoloGene in the rat genome, although *Ikzf1* exists in rats and is highly homologous to the human and *Danio rerio* genes when compared using the BLAST [388]. Thus, the use of curated databases to identify orthologs can lead to data loss, due to a decrease in the

number of genes identified as orthologues, highlighting the need for manual data curation and further updating of databases.

As mentioned earlier, in Experiments 1-3, the study of gene sets was found to be more sensitive for detecting evolutionary conservative changes than determining the differential expression of individual genes. At the same time, the KEGG database does not contain gene sets that would be directly associated with affective pathogenesis, since at the moment, the specific molecular pathways responsible for the pathogenesis of these disorders remain unknown. Thus, it becomes logical to focus on those sets of genes that change in the study itself, regardless of their presence in databases. To solve this problem, a new approach was used in this study using expression data of gene sets containing genes that were identified in maximal cliques from a network of protein-protein interactions built based on genes orthologues of three species. Although maximal clique analysis has been applied in various transcriptome studies earlier [381-384], In this work, this approach was not only used for the first time to analyze data of the CNS transcriptome of three types in affective pathology but was also applied simultaneously with the method of meta-analysis, which contributed to the determination of maximal cliques, the expression of which is evolutionarily conservatively significant in affective pathology

Using genes from maximal cliques that statistically significantly changed their expression based on meta-analysis, a new set of genes was also proposed that could potentially be used to compare affective pathological states (used as a curated set in databases). This set of genes includes a wide range of well-known genes associated with stress and affective pathologies, including FOS-, JUN-, MAPK-, Wnt- related genes and genes associated with cell adhesion, thus confirming the validity of the approach. Further, using genes, which direction of change in gene expression in the experimental groups was the same, a smaller network was proposed (Fig. 22-23, Table A.29 in the appendix), in which 6 genes were also identified, the expression of which was simultaneously strongly expressed in affective pathology in all 3 species (*GRIA1*, *DLG1*, *CDH1*, *THRB*, *PLCG2*, *NGEF*).

Thus, the proposed method for the analysis of maximal cliques, in combination with the method of meta-analysis, successfully identified the genes that were involved in affective pathology in all studied species, representing evolutionary conservative biomarkers. Moreover, the expression of all these genes (except NGEF) changed in the opposite direction from the CUS and MDD as a result of chronic exposure to antidepressants, which also confirms their involvement not only in stress pathology but also in the effects of antidepressants, thus confirming the pharmacological validity of the presented approach. and observations.

PLCG2 belongs to the phospolipase C gamma (PLC) family and encodes the enzyme 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiestirase gamma-2 (PLCG2) which cleaves the membrane phospholipid 1-phosphatidyl-1D-myo-inositol 4,5-bisphosphate (PIP2) to secondary messengers myoinositol 1,4,5-triphosphate (IP3) and diacylglycerol (DAG), which play an important role in signal transmission [395-397]. Another member of the PLC family, *PLCG1* is widely expressed in the brain, especially in the cortex and hippocampus [398], and is also associated with CNS disorders such as epilepsy, Huntington's disease, bipolar and unipolar depression [399-401]. In contrast, *PLCG2* is much more expressed in the bone marrow and lymphoid organs [402] and is involved in the development of hereditary immune and autoimmune disorders [403, 404]. However, recent studies in mice have shown that *PLCG2* is expressed in the granular cell layer of the dentate gyrus and microglia [405] and mutations in this gene may be involved in the development of Alzheimer's disease [405]. Thus, current data indicate the possible involvement of PLCG1 and PLCG2 in neurodegenerative and affective pathologies.

THRB generates two isoforms of the thyroid hormone beta receptor - TRβ1 and TRβ2 [406]. Together with another receptor (TRα), these nuclear receptors act as transcription factors mediating the genomic effects of thyroid hormone in various tissues [407, 408]. It is important to note that thyroid receptors are highly expressed in the brain [409, 410], and thyroid hormones, acting through these receptors, are involved in the regulation of monoaminergic function, thus affecting behavior and mood

[411-414]. Also, diseases associated with dysfunction of the thyroid system are closely associated with affective disorders [415-417].

Neuronal guanine nucleotide exchange factor *NGEF* [418] is expressed in the caudate nucleus and is associated with the activation of proteins from the Ras superfamily (RhoA, Rac1, and Cdc42), thus participating in the MAPK signaling pathway and intercellular contacts [419]. NGEF is also part of the signaling pathway of the tyrosine kinase receptor (EPHA4), which is responsible for the formation of neuronal pathways, nerve growth, and changes in cell morphology associated with its motility [420-424]. However, the functions of *NGEF* remain poorly understood, and its role in pathologies associated with stress and mood disorders (which is suggested in the current study) requires further study.

The *GRIA1* gene encodes the protein GluR1 (GLUA1), which is a subunit of the glutamate receptor α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) receptor, which plays an important role in synaptic plasticity, learning, and memory [425-427]. *GRIA1* is widely expressed in the entire brain of rats and humans, with the highest expression in the hippocampus [428, 429]. Interestingly, the *Gria1-/-* mouse has pronounced hyperlocomotion, anxious phenotype, and impaired spatial memory and object recognition [430-434]. A growing body of evidence suggests a link between impaired GluR1 function and unipolar and bipolar depression and schizophrenia [435-437], confirming the need for further research on the function of this protein under stress *in vivo*. In rats, the activity of GluR1 changes in different regions as a consequence of both acute [438-441] and chronic stress exposure [439, 442-450], usually causing a decline in *Gria1*/GluR1 gene expression or protein level. However, the patterns of GluR1 regulation also depend on the duration of stress and the region studied. For example, the level of GluR1 was increased in the hippocampus as a result of relatively short exposure to stress (<21 days) [439, 445, 446], but decreased after 28 days [447, 449, 450]. Moreover, exposure to classical antidepressants, as well as ketamine, leads to an increase in *Gria1* expression and restores the GluR1 level in chronically stressed rodents [451-455]. Together with the data presented in this Chapter (Fig.

22-23, Table A.29 in the appendix), it can be assumed that there is a high probability of an evolutionary conservative and key role of GluR1 in affective pathogenesis.

The discs 1 large homologue (DLG1) is a protein of the membrane-associated guanylate kinase (MAGUK) family that regulates B- and T-lymphocyte activation and is encoded in humans by the *DLG1* gene [456, 457]. In rats, Dlg1 is located in presynaptic terminals, as well as in clusters of unmyelinated axons [458]. In addition to DLG1, there are other types of DLGs (DLG2 (PSD-93), DLG3 (NE-dlg), and DLG4 (PSD-95)) expressed almost exclusively in the CNS [459] and, probably, participating in the development of affective pathogenesis in rodents (for example, the level of Dlg4, but not Dlg1 or Dlg2, decreases in the hippocampus of mice 2 days after the Porsolt forced swimming test [460]). DLG1 also regulates the activity of N-methyl-D-aspartic acid (NDMA) glutamate and AMPA receptors [461, 462]. NDMA receptor antagonists such as ketamine have pronounced anxiolytic and antidepressant effects [463], and antagonism of AMPA receptors, on the contrary, is associated with depression [464].

Perhaps the most interesting observation in the context of affective pathology is the change in the epithelial cadherin gene (E-cadherin; *CDH1*), Ca^{2+}- -dependent cell adhesion molecule [465], whose extracellular region acts as an adhesive molecule by binding to cadherins on other cells [466], and the intracellular region interacts with catenins (α- and β-catenins) and other regulatory proteins [467]. Since β-catenin is an important protein for intracellular transmission of molecular signals in the wnt signaling pathway, the complex formed by cadherin and catenin acts as a modulator of intracellular signal transmission [468]. The Wnt signaling pathway has long been debated in the context of affective pathogenesis [469], and a decrease in *CDH1* expression has been reported following exposure to the new, rapidly acting antidepressant ketamine *in vitro* [470]. Likewise, the classic antidepressant fluoxetine exhibits adhesion associated with CDH1 [471]. Unlike other genes discussed in this work, *CDH1* is also expressed in the prefrontal cortex of patients with MDD relative to control (if analyzed using a protocol similar to Experiment 4), confirming not only the evolutionary-conservative role but also the possible absence of tissue specificity of this biomarker.

In summary, translational approaches remain a key tool for innovative CNS research. In this work, several new methods were used for the first time, aiming to determine evolutionarily conserved transcriptome phenotypes between three different vertebrate models (zebrafish, rats, and clinical data). Using these approaches, GRIA1, DLG1, CDH1, THRB, PLCG2, NGEF, IKZF1, FEZF2 were identified as potentially interesting, key hub molecular targets in affective pathology of vertebrates, whose research may contribute to the further development of the field.

Conclusion

The work has successfully evaluated the behavioral, physiological, and molecular genetic phenotypes mediating stress-induced affective pathogenesis. Including:

1. For the first time, a test for behavioral despair (the zebrafish tail immobilization test) was developed in *Danio rerio*, which, according to its pharmacological, stress, and neurochemical validation, can be analogous to tests for the behavioral despair of rodents. Thus, the activity of zebrafish in this test increases after exposure to antidepressants, but decreases when exposed to stressors and remains unchanged when exposed to anxiolytic drugs without antidepressant effects. It has also been shown that behavior in this test is closely related to serotonin and, to a lesser extent, dopamine turnover, closely echoing the known data on rodent models and the effects of classical antidepressants in the brain. Thus, the developed test can be recommended for further use as a test for screening for drugs with antidepressant activity.

2. For the first time, the complex weekly dynamics of neurochemical and behavioral changes caused by the model of chronic unpredictable stress using *Danio rerio* as a model organism was investigated, as well as their correction with chronic exposure to antidepressants. It has been shown that the model of chronic unpredictable stress causes a pronounced anxiety phenotype throughout the entire testing period, while various classical paradigms for assessing anxiety behavior were effective to vary degrees, depending on the testing week. Likewise, high anxiety is the main stable phenotype observed in rodent models of chronic stress, highlighting the high degree of model validity. It was also shown that the new test for behavioral despair, proposed in Chapter 1, shows complex temporal dynamics - the activity of zebrafish in the test decreases in the first week of modeling, increases in the third and remains unchanged throughout the remaining weeks of modeling. These results are important from the point of view of the large variability in studies investigating the effects of chronic stress in rodents and indicate the presence of a complex pattern of behavioral despair in models of affective pathology. Neurochemical studies have shown that starting from the third week of modeling, zebrafish develop a sustained decrease

in the level of serotonin metabolism, which is in good agreement with clinical studies linking affective pathologies with a decrease in the metabolism of monoamines in the brain. At the same time, on the second week, an increase in metabolism was observed, which emphasizes the importance of long-term (more than 2 weeks) modeling, for reproducing specific phenotypes of human pathologies. Thus, in this work, the existence of high variability in behavioral and molecular parameters throughout modeling was confirmed, which emphasizes the importance of choosing the correct protocol durations in studies, as well as the importance of taking into account the modeling time and the severity of stressors when comparing work results. At the same time, the antidepressant fluoxetine successfully restored most of the indicators to the level of the control group, which confirms the validity of chronic stress models.

3. The effects of chronic stress on gene expression in the whole brain of *Danio rerio* have been described and analyzed in detail. Thus, it was shown that chronic stress triggers the expression of genes associated with neuroinflammatory processes, structural changes in the cytoskeleton and adhesion mechanisms, as well as the regulation of the GPCR signaling using arrestins and ubiquitins. The work also identified key, hub genes in the molecular networks of protein-protein interactions and gene co-expression based on differentially expressed genes, which may act as important novel targets influencing the pathogenesis of affective disorders, such as *tpm4b*, *isg15*, *stat1b*, *mov10b.1*, *CABZ01073795.1*, *mxa*, and others. In this case, the antidepressant exposure (fluoxetine) restored the expression of most genes to the level of the control group. At the same time, some of the genes remained resistant to the effects of fluoxetine, which may indicate that modern antidepressants do not affect the central targets in the pathogenesis of depression and the effect on genes whose expression is not corrected by exposure to fluoxetine (for example, *isg15*) may be a promising strategy for search for novel drugs.

4. New methods of interspecies translation of transcriptome data have been developed and successfully applied, and the potential of their use in neurobiological research has been assessed. In particular, the profiles of CNS transcriptomes were compared in affective pathogenesis in humans (Major Depressive Disorder) or animals (Chronic Unpredictable Stress) using four conceptually

different methods for analyzing and comparing RNA sequencing data. Thus, a “head-to-head” comparison of data was successfully carried out, in which lists of differentially expressed genes and enriched gene sets obtained for each species analyzed separately by classical methods were compared using Venn diagrams. Also, an attempt was made to combine these transcriptomes of various animals into a single experiment, by mapping them to human orthologous genes common to all three species. The next proposed experiment also used only human orthologous genes, but analyzed the data separately for each species, further comparing their results using meta-analytical methods. The last proposed method, which turned out to be the most effective, used the expression levels of the maximal cliques formed in the network of protein-protein interactions built for human orthologous genes, followed by a meta-analysis of the expression levels of these cliques between species and the identification of core conservative genes in the cliques responsible for affective pathogenesis in all three species simultaneously. Having successfully identified the similarities in pathogenesis, the last 2 methods using a meta-analytical approach have a high potential for further application in translational research. It should also be noted that all of the presented methods to one degree or another obtained resembling results in each analysis, which confirms the validity of each of them separately.

5. Common abnormalities in brain gene expression have been identified that occur in zebrafish and rats exposed to the chronic unpredictable stress model, as well as people with Major Depressive Disorder (MDD) (Chapter 3). Using new approaches, GRIA1, DLG1, CDH1, THRB, PLCG2, NGEF, IKZF1, FEZF2 were identified as potentially interesting, key hub molecular targets in the affective pathology of vertebrates, whose further research could contribute to the further development of the field. Most of these genes were not previously described as directly related to affective pathogenesis, which emphasizes the possibility of these approaches to identify new molecular targets that are evolutionarily conservative between species, but not detected using classical intraspecific studies.

6. Based on the materials of the thesis, 26 works were published: 11 scientific articles indexed in WoS and Scopus, as well as 15 publications in the proceedings of international conferences.

The results and conclusions obtained in the work are of high translational and applied significance. Thus, the proposed test for determining behavioral despair in *Danio rerio* can be used as an additional stage of drug screening, preceding rodent testing, for preliminary filtering of molecules without psychoactive properties. This use of the test could significantly reduce the cost of novel psychoactive drugs research and development by reducing the number of rodents used. Similarly, the introduction of the test will help reduce the ethical burden on research associated with the behavioral despair phenotype by using an organism that is simpler from an evolutionary point of view. Further studies of the neurobiological foundations of behavioral despair in zebrafish may contribute to the identification of the main mechanisms mediating this phenotype in vertebrates, including due to the relative simplicity of the nervous system of this organism. The study on the chronic unpredictable stress in *Danio rerio* confirms the high evolutionary conservation of stress pathology in vertebrates, which indicates the relative evolutionary antiquity of this pathological phenotype and the potential for the further use of the model. At the same time, the results of the study of chronic unpredictable stress in the zebrafish indicate the high significance of prolonged stressing of animals for the correct modeling of pathology, as well as the high variability of the behavioral and neurochemical data in the model over time, which is an important source of variability in current studies of chronic stress, both in zebrafish and rats. The proposed methods of transcriptome analysis can be used for the interspecies analysis of data from other heterogeneous diseases, including mental and neurological ones, to determine similar abnormalities that could be a key part of disorders pathogenesis. In conclusion, the revealed evolutionary-conservative abnormalities in the brain transcriptome in affective pathologies of zebrafish, rats, and humans can be used to develop fundamentally new pharmacological drugs, animal models (including genetic ones), as well as novel theories of the pathogenesis of affective disorders.

Findings

1) Using pharmacological and stressful treatments, it has been confirmed that the zebrafish tail immobilization test closely resembles the rodent behavioral despair tests. Thus, the phenotype observed in the test turned out to be sensitive to the effects of sertraline and amitriptyline, acute stressful effects, but not to the anxiolytic drug phenazepam. It has been shown that the testing increases the turnover of serotonin in the fish brain, and the combination of testing and preliminary stress exposure increases both the turnover of serotonin and the turnover of dopamine. At the same time, antidepressants have the opposite effect on these neurochemical indicators during testing.

2) Chronic unpredictable stress (CUS) in *Danio rerio* reduces the time spent the top half of the tank in the novel tank test throughout the entire modeling period, which indicates the development of a pronounced affective, anxiety-like phenotype. In other tests, complex time dynamics of changes in key behavioral indicators were observed. At the same time, the СГS increased the turnover of serotonin in the brain of zebrafish in the second week of testing and decreased its turnover at the third and fourth weeks. Thus, depending on the duration of stress, there was a high behavioral and neurochemical variability of the phenotypes observed in the model.

3) The chronic unpredictable stress model induces differential expression of 196 genes and enrichment of 97 gene sets in the brain of *Danio rerio* after 5 weeks of exposure. Additional chronic exposure to the antidepressant fluoxetine for 1 week successfully restored the expression of most of these genes, resulting in only 49 differentially expressed genes and 74 enriched gene sets (compared to the control group). In the network of protein-protein interactions created from the genes differentially expressed in the analysis, tpm4b, mov10b.1, isg15, stat1b can be distinguished as important molecular targets for further research.

4) Traditional methods of direct comparison of transcriptome data between different species reveal a low number of common genes and sets of genes involved in the pathogenesis of stress-induced

disorders. The proposed methods for the interspecies analysis of the transcriptome using meta-analytical comparison of data from the analysis of differential gene expression or enrichment of cliques in the network of protein-protein interactions of each species separately, using orthologous genes common between these species, may be more effective for determining evolutionary-conservative mechanisms of pathogenesis.

5) According to the analyzes, the expression of genes-orthologues *GRIA1*, *DLG1*, *CDH1*, *THRB*, *PLCG2*, *NGEF*, *IKZF1*, *FEZF2* in the brain of chronically stressed zebrafish and rats, as well as people with Major Depressive Disorder, has the highest degree of conservation. Also, according to the results of the work, a set of 253 genes was proposed, which can potentially be used as a reference set to determine its enrichment in various disorders, as associated with affective pathologies.

Acknowledgments

I would like to express my gratitude to my scientific advisor, Professor Alan Valerievich Kaluev, for the responsive supervision of the project and immeasurable career support; to my loved ones, for their steadfast moral support and for their irreplaceable contribution to stimulating my creativity; Professors Raul Radikovich Gainetdinov (ITBM, SPBU) and Mikhail Mikhailovich Galagudze (Almazov NMRC) for their collegial inspiration and extensive resource support of the project; Ph.D. Efimova Evgenia Viktorovna (ITBM, SPBU) for help with chromatographic experiments, to Professor Alexandra Davydovna Kharazova (SPBU) for an attentive, friendly attitude and ensuring communication with the Faculty of Biology of St. Petersburg State University; employees and students of the ITBM, in particular the Laboratory of Biological Psychiatry, for their high interest in the project, teaching many of the methods used in it, the opportunity to discuss it during work and for the close friendly atmosphere that has developed in the team; to the SPBU Resource Center for the Development of Molecular and Cellular Technologies, in particular to Alexey Elvinovich Masharsky, for his great help in organizing the molecular work on the project, as well as SPBU, RSF, and RFBR - for their financial support of some of these studies.

List of publications that outline the main scientific results of the dissertation:

1. Demin K. A., Lakstygal A. M., Chernysh M. V., Krotova N. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Seredinskaya M. V., Tagawa N., Savva A. K., Mor M. S. The zebrafish tail immobilization (ZTI) test as a new tool to assess stress-related behavior and a potential screen for drugs affecting despair-like states // Journal of Neuroscience Methods. — 2020
2. Demin K. A., Lakstygal A. M., Krotova N. A., Masharsky A., Tagawa N., Chernysh M. V., Ilyin N. P., Taranov A. S., Galstyan D. S., Derzhavina K. A. Understanding complex dynamics of behavioral, neurochemical and transcriptomic changes induced by prolonged chronic unpredictable stress in zebrafish // Scientific reports. — 2020. — Т. 10, № 1. — С. 1-20
3. Demin K. A., Kolesnikova T. O., Galstyan D. S., Krotova N. A., Ilyin N. P., Derzhavina K. A., Levchenko N. A., Strekalova T., de Abreu M. S., Petersen E. V. Modulation of behavioral and neurochemical responses of adult zebrafish by fluoxetine, eicosapentaenoic acid and lipopolysaccharide in the prolonged chronic unpredictable stress model // Scientific reports. — 2021. — Т. 11, № 1. — С. 1-15
4. 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. — 2017. — Jul. — Т. 62. — С. 27-33
5. 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. — May 8
6. de Abreu M. S., Friend A. J., Demin K. A., Amstislavskaya T. G., Bao W., Kalueff A. V. Zebrafish models: do we have valid paradigms for depression? // Journal of pharmacological and toxicological methods. — 2018
7. Ma L., Demin K. A., Kolesnikova T. O., Kharsko S. L., Zhu X., Yuan X., Song C., Meshalkina D. A., Leonard B. E., Tian L. Animal inflammation-based models of depression and their application to drug discovery // Expert opinion on drug discovery. — 2017. — Т. 12, № 10. — С. 995-1009
8. Demin K. A., Sysoev M., Chernysh M. V., Savva A. K., Koshiba M., Wappler-Guzzetta E. A., Song C., De Abreu M. S., Leonard B., Parker M. O. Animal models of major depressive disorder and the implications for drug discovery and development // Expert opinion on drug discovery. — 2019. — Т. 14, № 4. — С. 365-378
9. 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 animal. — 2017. — Т. 46, № 10. — С. 378-387
10. Demin K. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Lakstygal A. M., Volgin A. D., de Abreu M. S., Strekalova T., Kalueff A. V. Understanding neurobehavioral effects of acute and chronic stress in zebrafish // Stress. — 2021. — Т. 24, № 1. — С. 1-18
11. Demin K. A., Lakstygal A. M., Alekseeva P. A., Sysoev M., de Abreu M. S., Alpyshov E. T., Serikuly N., Wang D., Wang M., Tang Z. The role of intraspecies variation in fish neurobehavioral and neuropharmacological phenotypes in aquatic models // Aquatic toxicology. — 2019.

References

1. McEwen B. S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain // Physiological reviews. — 2007. — V. 87, № 3. — P. 873-904.
2. Sapolsky R. M. The endocrine stress-response and social status in the wild baboon // Hormones and behavior. — 1982. — V. 16, № 3. — P. 279-292.
3. Chrousos G. P., Gold P. W. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis // Jama. — 1992. — V. 267, № 9. — P. 1244-1252.
4. Chrousos G. P. Stress and disorders of the stress system // Nature reviews endocrinology. — 2009. — V. 5, № 7. — P. 374.
5. Walker E., Mittal V., Tessner K. Stress and the hypothalamic pituitary adrenal axis in the developmental course of schizophrenia // Annu. Rev. Clin. Psychol. — 2008. — V. 4. — P. 189-216.
6. Kyrou I., Tsigos C. Stress mechanisms and metabolic complications // Hormone and Metabolic Research. — 2007. — V. 39, № 06. — P. 430-438.
7. Elenkov I. J., Chrousos G. P. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity // Annals of the New York Academy of Sciences. — 2002. — V. 966, № 1. — P. 290-303.
8. Golovatscka V., Ennes H., Mayer E. A., Bradesi S. Chronic stress-induced changes in pro-inflammatory cytokines and spinal glia markers in the rat: a time course study // Neuroimmunomodulation. — 2012. — V. 19, № 6. — P. 367-376.
9. Yang P., Gao Z., Zhang H., Fang Z., Wu C., Xu H., Huang Q.-J. Changes in proinflammatory cytokines and white matter in chronically stressed rats // Neuropsychiatric disease and treatment. — 2015. — V. 11. — P. 597.
10. Charmandari E., Tsigos C., Chrousos G. Endocrinology of the stress response // Annu. Rev. Physiol. — 2005. — V. 67. — P. 259-284.
11. Thomson F., Craighead M. Innovative approaches for the treatment of depression: targeting the HPA axis // Neurochemical Research. — 2008. — V. 33, № 4. — P. 691-707.
12. Barden N. Implication of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the physiopathology of depression // Journal of Psychiatry and Neuroscience. — 2004. — V. 29, № 3. — P. 185.
13. Moussavi S., Chatterji S., Verdes E., Tandon A., Patel V., Ustun B. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys // The Lancet. — 2007. — V. 370, № 9590. — P. 851-858.
14. Kohn R., Saxena S., Levav I., Saraceno B. The treatment gap in mental health care // Bulletin of the World health Organization. — 2004. — V. 82. — P. 858-866.
15. Patros P., Shamoo T. K. Depression and suicide in children and adolescents // Boston: Aleyn and Bacon Inc. — 1989.
16. Sandi C., Richter-Levin G. From high anxiety trait to depression: a neurocognitive hypothesis // Trends in neurosciences. — 2009. — V. 32, № 6. — P. 312-320.
17. Krishnan V., Nestler E. J. The molecular neurobiology of depression // Nature. — 2008. — V. 455, № 7215. — P. 894-902.
18. Sgoifo A., Meerlo P. Animal models of social stress: implications for the study of stress related pathologies in humans // Stress. — 2002. — V. 5, № 1. — P. 1-2.
19. Scharf S. H., Schmidt M. V. Animal models of stress vulnerability and resilience in translational research // Current Psychiatry Reports. — 2012. — V. 14, № 2. — P. 159-165.
20. Czéh B., Fuchs E., Wiborg O., Simon M. Animal models of major depression and their clinical implications // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2016. — V. 64. — P. 293-310.
21. Bondi C. O., Rodriguez G., Gould G. G., Frazer A., Morilak D. A. Chronic unpredictable stress induces a cognitive deficit and anxiety-like behavior in rats that is prevented by chronic

antidepressant drug treatment // Neuropsychopharmacology. — 2008. — V. 33, № 2. — P. 320-331.
22. Cox B. M., Alsawah F., McNeill P. C., Galloway M. P., Perrine S. A. Neurochemical, hormonal, and behavioral effects of chronic unpredictable stress in the rat // Behavioural brain research. — 2011. — V. 220, № 1. — P. 106-111.
23. Otabi H., Goto T., Okayama T., Kohari D., Toyoda A. The acute social defeat stress and nest-building test paradigm: A potential new method to screen drugs for depressive-like symptoms // Behavioural processes. — 2017. — V. 135. — P. 71-75.
24. Monteiro S., Roque S., de Sá-Calçada D., Sousa N., Correia-Neves M., Cerqueira J. J. An efficient chronic unpredictable stress protocol to induce stress-related responses in C57BL/6 mice // Frontiers in psychiatry. — 2015. — V. 6. — P. 6.
25. Ma L., Demin K. A., Kolesnikova T. O., Kharsko S. L., Zhu X., Yuan X., Song C., Meshalkina D. A., Leonard B. E., Tian L. Animal inflammation-based models of depression and their application to drug discovery // Expert opinion on drug discovery. — 2017. — V. 12, № 10. — P. 995-1009.
26. Demin K. A., Sysoev M., Chernysh M. V., Savva A. K., Koshiba M., Wappler-Guzzetta E. A., Song C., De Abreu M. S., Leonard B., Parker M. O. Animal models of major depressive disorder and the implications for drug discovery and development // Expert opinion on drug discovery. — 2019. — V. 14, № 4. — P. 365-378.
27. Katz R. J. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 1982. — V. 16, № 6. — P. 965-968.
28. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation // Psychopharmacology. — 1997. — V. 134, № 4. — P. 319-329.
29. Katz R. J. Animal models and human depressive disorders // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 1981. — V. 5, № 2. — P. 231-246.
30. Echandia E. R., Gonzalez A., Cabrera R., Fracchia L. A further analysis of behavioral and endocrine effects of unpredictable chronic stress // Physiology & behavior. — 1988. — V. 43, № 6. — P. 789-795.
31. Mineur Y. S., Belzung C., Crusio W. E. Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice // Behavioural brain research. — 2006. — V. 175, № 1. — P. 43-50.
32. Paolo S., Brain P., Willner P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression // Physiology & behavior. — 1994. — V. 56, № 5. — P. 861-867.
33. Hill M. N., Hellemans K. G., Verma P., Gorzalka B. B., Weinberg J. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2012. — V. 36, № 9. — P. 2085-2117.
34. Stockmeier C. A., Dilley G. E., Shapiro L. A., Overholser J. C., Thompson P. A., Meltzer H. Y. Serotonin receptors in suicide victims with major depression // Neuropsychopharmacology. — 1997. — V. 16, № 2. — P. 162-173.
35. Stockmeier C. A., Shapiro L. A., Dilley G. E., Kolli T. N., Friedman L., Rajkowska G. Increase in serotonin-1A autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression—postmortem evidence for decreased serotonin activity // Journal of Neuroscience. — 1998. — V. 18, № 18. — P. 7394-7401.
36. Van Praag H. M. Depression, suicide and the metabolism of serotonin in the brain // Journal of Affective Disorders. — 1982.
37. Bhutani M. K., Bishnoi M., Kulkarni S. K. Anti-depressant like effect of curcumin and its combination with piperine in unpredictable chronic stress-induced behavioral, biochemical and neurochemical changes // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2009. — V. 92, № 1. — P. 39-43.

38. Xu Q., Yi L.-T., Pan Y., Wang X., Li Y.-C., Li J.-M., Wang C.-P., Kong L.-D. Antidepressant-like effects of the mixture of honokiol and magnolol from the barks of Magnolia officinalis in stressed rodents // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2008. — V. 32, № 3. — P. 715-725.
39. Li Y.-C., Wang F.-M., Pan Y., Qiang L.-Q., Cheng G., Zhang W.-Y., Kong L.-D. Antidepressant-like effects of curcumin on serotonergic receptor-coupled AC-cAMP pathway in chronic unpredictable mild stress of rats // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2009. — V. 33, № 3. — P. 435-449.
40. Ahmad A., Rasheed N., Banu N., Palit G. Alterations in monoamine levels and oxidative systems in frontal cortex, striatum, and hippocampus of the rat brain during chronic unpredictable stress // Stress. — 2010. — V. 13, № 4. — P. 356-365.
41. Shi C.-g., Wang L.-m., Wu Y., Wang P., Gan Z.-j., Lin K., Jiang L.-x., Xu Z.-q., Fan M. Intranasal administration of nerve growth factor produces antidepressant-like effects in animals // Neurochemical research. — 2010. — V. 35, № 9. — P. 1302-1314.
42. Rasheed N., Tyagi E., Ahmad A., Siripurapu K. B., Lahiri S., Shukla R., Palit G. Involvement of monoamines and proinflammatory cytokines in mediating the anti-stress effects of Panax quinquefolium // Journal of ethnopharmacology. — 2008. — V. 117, № 2. — P. 257-262.
43. Yi L.-T., Li J.-M., Li Y.-C., Pan Y., Xu Q., Kong L.-D. Antidepressant-like behavioral and neurochemical effects of the citrus-associated chemical apigenin // Life sciences. — 2008. — V. 82, № 13-14. — P. 741-751.
44. Sheikh N., Ahmad A., Siripurapu K. B., Kuchibhotla V. K., Singh S., Palit G. Effect of Bacopa monniera on stress induced changes in plasma corticosterone and brain monoamines in rats // Journal of ethnopharmacology. — 2007. — V. 111, № 3. — P. 671-676.
45. Vancassel S., Leman S., Hanonick L., Denis S., Roger J., Nollet M., Bodard S., Kousignian I., Belzung C., Chalon S. n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation reverses stress-induced modifications on brain monoamine levels in mice // Journal of Lipid Research. — 2008. — V. 49, № 2. — P. 340-348.
46. Yang L.-M., Hu B., Xia Y.-H., Zhang B.-L., Zhao H. Lateral habenula lesions improve the behavioral response in depressed rats via increasing the serotonin level in dorsal raphe nucleus // Behavioural brain research. — 2008. — V. 188, № 1. — P. 84-90.
47. Yalcin I., Coubard S., Bodard S., Chalon S., Belzung C. Effects of 5, 7-dihydroxytryptamine lesion of the dorsal raphe nucleus on the antidepressant-like action of tramadol in the unpredictable chronic mild stress in mice // Psychopharmacology. — 2008. — V. 200, № 4. — P. 497-507.
48. Bekris S., Antoniou K., Daskas S., Papadopoulou-Daifoti Z. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains // Behavioural brain research. — 2005. — V. 161, № 1. — P. 45-59.
49. Dalla C., Antoniou K., Drossopoulou G., Xagoraris M., Kokras N., Sfikakis A., Papadopoulou-Daifoti Z. Chronic mild stress impact: are females more vulnerable? // Neuroscience. — 2005. — V. 135, № 3. — P. 703-714.
50. Johnson B. N., Yamamoto B. K. Chronic stress enhances the corticosterone response and neurotoxicity to+ 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA): the role of ambient temperature // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2010. — V. 335, № 1. — P. 180-189.
51. Laugeray A., Launay J.-M., Callebert J., Surget A., Belzung C., Barone P. R. Peripheral and cerebral metabolic abnormalities of the tryptophan–kynurenine pathway in a murine model of major depression // Behavioural brain research. — 2010. — V. 210, № 1. — P. 84-91.
52. Johnson B. N., Yamamoto B. K. Chronic unpredictable stress augments+ 3, 4-methylenedioxymethamphetamine-induced monoamine depletions: the role of corticosterone // Neuroscience. — 2009. — V. 159, № 4. — P. 1233-1243.

53. Li J.-M., Kong L.-D., Wang Y.-M., Cheng C. H., Zhang W.-Y., Tan W.-Z. Behavioral and biochemical studies on chronic mild stress models in rats treated with a Chinese traditional prescription Banxia-houpu decoction // Life sciences. — 2003. — V. 74, № 1. — P. 55-73.
54. Häidkind R., Eller M., Harro M., Kask A., Rinken A., Oreland L., Harro J. Effects of partial locus coeruleus denervation and chronic mild stress on behaviour and monoamine neurochemistry in the rat // European neuropsychopharmacology. — 2003. — V. 13, № 1. — P. 19-28.
55. Patterson Z., Ducharme R., Anisman H., Abizaid A. Altered metabolic and neurochemical responses to chronic unpredictable stressors in ghrelin receptor-deficient mice // European Journal of Neuroscience. — 2010. — V. 32, № 4. — P. 632-639.
56. Tannenbaum B., Anisman H. Impact of chronic intermittent challenges in stressor-susceptible and resilient strains of mice // Biological Psychiatry. — 2003. — V. 53, № 4. — P. 292-303.
57. Surget A., Wang Y., Leman S., Ibarguen-Vargas Y., Edgar N., Griebel G., Belzung C., Sibille E. Corticolimbic Transcriptome Changes are State-Dependent and Region-Specific in a Rodent Model of Depression and of Antidepressant Reversal // Neuropsychopharmacology. — 2009. — 2009/05/01. — V. 34, № 6. — P. 1363-1380.
58. Wang Y., Jiang H., Meng H., Lu J., Li J., Zhang X., Yang X., Zhao B., Sun Y., Bao T. Genome-wide transcriptome analysis of hippocampus in rats indicated that TLR/NLR signaling pathway was involved in the pathogenisis of depressive disorder induced by chronic restraint stress // Brain Research Bulletin. — 2017. — 2017/09/01/. — V. 134. — P. 195-204.
59. Lisowski P., Juszczak G. R., Goscik J., Wieczorek M., Zwierzchowski L., Swiergiel A. H. Effect of chronic mild stress on hippocampal transcriptome in mice selected for high and low stress-induced analgesia and displaying different emotional behaviors // European Neuropsychopharmacology. — 2011. — 2011/01/01/. — V. 21, № 1. — P. 45-62.
60. Shen M., Song Z., Wang J.-H. microRNA and mRNA profiles in the amygdala are associated with stress-induced depression and resilience in juvenile mice // Psychopharmacology. — 2019. — 2019/07/01. — V. 236, № 7. — P. 2119-2142.
61. Datson N. A., Speksnijder N., Mayer J. L., Steenbergen P. J., Korobko O., Goeman J., de Kloet E. R., Joëls M., Lucassen P. J. The transcriptional response to chronic stress and glucocorticoid receptor blockade in the hippocampal dentate gyrus // Hippocampus. — 2012. — 2012/02/01. — V. 22, № 2. — P. 359-371.
62. Kudryavtseva N. N., Smagin D. A., Kovalenko I. L., Galyamina A. G., Vishnivetskaya G. B., Babenko V. N., Orlov Y. L. Serotonergic genes in the development of anxiety/depression-like state and pathology of aggressive behavior in male mice: RNA-seq data // Molecular Biology. — 2017. — 2017/03/01. — V. 51, № 2. — P. 251-262.
63. Andrus B. M., Blizinsky K., Vedell P. T., Dennis K., Shukla P. K., Schaffer D. J., Radulovic J., Churchill G. A., Redei E. E. Gene expression patterns in the hippocampus and amygdala of endogenous depression and chronic stress models // Molecular Psychiatry. — 2012. — 2012/01/01. — V. 17, № 1. — P. 49-61.
64. Carboni L., Marchetti L., Lauria M., Gass P., Vollmayr B., Redfern A., Jones L., Razzoli M., Malki K., Begni V., Riva M. A., Domenici E., Caberlotto L., Mathé A. A. Cross-species evidence from human and rat brain transcriptome for growth factor signaling pathway dysregulation in major depression // Neuropsychopharmacology. — 2018. — 2018/09/01. — V. 43, № 10. — P. 2134-2145.
65. Misslin R., Belzung C., Vogel E. Behavioural validation of a light/dark choice procedure for testing anti-anxiety agents // Behavioural processes. — 1989. — V. 18, № 1-3. — P. 119-132.
66. Gould T. D., Dao D. T., Kovacsics C. E. The open field test // Mood and anxiety related phenotypes in miceSpringer, 2009. — P. 1-20.
67. Walf A. A., Frye C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents // Nature protocols. — 2007. — V. 2, № 2. — P. 322-328.

68. Ducottet C., Belzung C. Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice // Physiology & behavior. — 2004. — V. 81, № 3. — P. 417-426.
69. Katz R. J., Roth K. A., Carroll B. J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression //. — 1981.
70. Nezlek J. B., Imbrie M., Shean G. D. Depression and everyday social interaction // Journal of personality and social psychology. — 1994. — V. 67, № 6. — P. 1101.
71. Steger M. F., Kashdan T. B. Depression and everyday social activity, belonging, and well-being // Journal of counseling psychology. — 2009. — V. 56, № 2. — P. 289.
72. Beery A. K., Kaufer D. Stress, social behavior, and resilience: insights from rodents // Neurobiology of stress. — 2015. — V. 1. — P. 116-127.
73. Albers H. E. The regulation of social recognition, social communication and aggression: vasopressin in the social behavior neural network // Hormones and behavior. — 2012. — V. 61, № 3. — P. 283-292.
74. Robinson G. E., Fernald R. D., Clayton D. F. Genes and social behavior // science. — 2008. — V. 322, № 5903. — P. 896-900.
75. Kompagne H., Bárdos G., Szénási G., Gacsályi I., Hársing L. G., Lévay G. Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats // Behavioural brain research. — 2008. — V. 193, № 2. — P. 311-314.
76. Gambarana C., Scheggi S., Tagliamonte A., Tolu P., De Montis M. G. Animal models for the study of antidepressant activity // Brain Research Protocols. — 2001. — V. 7, № 1. — P. 11-20.
77. Holanda V. A., Medeiros I. U., Asth L., Guerrini R., Gavioli E. C. Antidepressant activity of nociceptin/orphanin FQ receptor antagonists in the mouse learned helplessness // Psychopharmacology. — 2016. — V. 233, № 13. — P. 2525-2532.
78. Shirayama Y., Yang C., Zhang J.-c., Ren Q., Yao W., Hashimoto K. Alterations in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its precursor proBDNF in the brain regions of a learned helplessness rat model and the antidepressant effects of a TrkB agonist and antagonist // European Neuropsychopharmacology. — 2015. — V. 25, № 12. — P. 2449-2458.
79. Porsolt R. D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // Nature. — 1977. — V. 266, № 5604. — P. 730-732.
80. Rolim H. M. L., Freitas R. M., Santos-Magalhães N. S. Antidepressant-like activity of liposomal formulation containing nimodipine treatment in the tail suspension test, forced swim test and MAOB activity in mice // Brain research. — 2016. — V. 1646. — P. 235-240.
81. Voiculescu S., Rosca A., Zeca V., Zagrean L., Zagrean A. Impact of maternal melatonin suppression on forced swim and tail suspension behavioral despair tests in adult offspring // Journal of medicine and life. — 2015. — V. 8, № 2. — P. 202.
82. Landgraf D., Long J. E., Proulx C. D., Barandas R., Malinow R., Welsh D. K. Genetic disruption of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus causes helplessness, behavioral despair, and anxiety-like behavior in mice // Biological psychiatry. — 2016. — V. 80, № 11. — P. 827-835.
83. Castagné V., Moser P., Porsolt R. D. Behavioral assessment of antidepressant activity in rodents // Methods of Behavior Analysis in Neuroscience. 2nd editionCRC Press/Taylor & Francis, 2009.
84. Demers M., Suidan G. L., Andrews N., Martinod K., Cabral J. E., Wagner D. D. Solid peripheral tumor leads to systemic inflammation, astrocyte activation and signs of behavioral despair in mice // PloS one. — 2018. — V. 13, № 11. — P. e0207241.
85. Kordjazy N., Haj-Mirzaian A., Amiri S., Ostadhadi S., Amini-Khoei H., Dehpour A. R. Involvement of N-methyl-d-aspartate receptors in the antidepressant-like effect of 5-hydroxytryptamine 3 antagonists in mouse forced swimming test and tail suspension test // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2016. — V. 141. — P. 1-9.
86. Qi C.-C., Shu Y.-M., Chen F.-H., Ding Y.-Q., Zhou J.-N. Sensitivity during the forced swim test is a key factor in evaluating the antidepressant effects of abscisic acid in mice // Behavioural brain research. — 2016. — V. 300. — P. 106-113.

87. Commons K. G., Cholanians A. B., Babb J. A., Ehlinger D. G. The rodent forced swim test measures stress-coping strategy, not depression-like behavior // ACS chemical neuroscience. — 2017. — V. 8, № 5. — P. 955-960.
88. Molendijk M. L., de Kloet E. R. Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression // Psychoneuroendocrinology. — 2015. — V. 62. — P. 389-391.
89. Nestler E. J., Hyman S. E. Animal models of neuropsychiatric disorders // Nature neuroscience. — 2010. — V. 13, № 10. — P. 1161.
90. Pytka K., Partyka A., Jastrzębska-Więsek M., Siwek A., Głuch-Lutwin M., Mordyl B., Kazek G., Rapacz A., Olczyk A., Gałuszka A. Antidepressant-and Anxiolytic-Like Effects of New Dual 5-HT 1A and 5-HT 7 Antagonists in Animal Models // PLoS One. — 2015. — V. 10, № 11. — P. e0142499.
91. Nestler E. J., Gould E., Manji H. Preclinical models: status of basic research in depression // Biological psychiatry. — 2002. — V. 52, № 6. — P. 503-528.
92. Yan H.-C., Cao X., Das M., Zhu X.-H., Gao T.-M. Behavioral animal models of depression // Neuroscience bulletin. — 2010. — V. 26, № 4. — P. 327-337.
93. Keles R., Hazar-Yavuz A. N., Yildiz S., Cam M., Sener G. Dapagliflozin attenuates anxiolytic-like behavior of rats in open field test // European Neuropsychopharmacology. — 2019. — V. 29. — P. S201-S202.
94. Walsh R. N., Cummins R. A. The open-field test: a critical review // Psychological bulletin. — 1976. — V. 83, № 3. — P. 482.
95. Thierry B., Steru L., Simon P., Porsolt R. The tail suspension test: ethical considerations // Psychopharmacology. — 1986. — V. 90, № 2. — P. 284-285.
96. Can A., Dao D. T., Arad M., Terrillion C. E., Piantadosi S. C., Gould T. D. The mouse forced swim test // JoVE (Journal of Visualized Experiments). — 2012. № 59. — P. e3638.
97. Cryan J. F., Markou A., Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs // Trends in pharmacological sciences. — 2002. — V. 23, № 5. — P. 238-245.
98. Slattery D. A., Cryan J. F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents // Nature protocols. — 2012. — V. 7, № 6. — P. 1009-1014.
99. Cryan J. F., Lucki I. Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine2C receptors // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2000. — V. 295, № 3. — P. 1120-1126.
100. Lucki I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs // Behavioural pharmacology. — 1997.
101. Petit-Demouliere B., Chenu F., Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity // Psychopharmacology. — 2005. — V. 177, № 3. — P. 245-255.
102. Steru L., Chermat R., Thierry B., Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice // Psychopharmacology. — 1985. — V. 85, № 3. — P. 367-370.
103. Cryan J. F., Mombereau C., Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2005. — V. 29, № 4-5. — P. 571-625.
104. Bernal-Morales B., Contreras C. M., Cueto-Escobedo J. Acute restraint stress produces behavioral despair in weanling rats in the forced swim test // Behavioural processes. — 2009. — V. 82, № 2. — P. 219-222.
105. Haj-Mirzaian A., Kordjazy N., Ostadhadi S., Amiri S., Haj-Mirzaian A., Dehpour A. Fluoxetine reverses the behavioral despair induced by neurogenic stress in mice: role of N-methyl-d-aspartate and opioid receptors // Canadian journal of physiology and pharmacology. — 2016. — V. 94, № 6. — P. 599-612.
106. Ostadhadi S., Haj-Mirzaian A., Nikoui V., Kordjazy N., Dehpour A. R. Involvement of opioid system in antidepressant-like effect of the cannabinoid CB 1 receptor inverse agonist AM-251 after

physical stress in mice // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. — 2016. — V. 43, № 2. — P. 203-212.
107. Furlanetti L. L., Coenen V. A., Aranda I. A., Döbrössy M. D. Chronic deep brain stimulation of the medial forebrain bundle reverses depressive-like behavior in a hemiparkinsonian rodent model // Experimental brain research. — 2015. — V. 233, № 11. — P. 3073-3085.
108. Medlej Y., Salah H., Wadi L., Saad S., Asdikian R., Karnib N., Ghazal D., Bashir B., Allam J., Obeid M. Overview on emotional behavioral testing in rodent models of pediatric epilepsy // Psychiatric disordersSpringer, 2019. — P. 345-367.
109. Baumans V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals // Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties. — 2005. — V. 24, № 2. — P. 503.
110. Carstens E., Moberg G. P. Recognizing pain and distress in laboratory animals // Ilar Journal. — 2000. — V. 41, № 2. — P. 62-71.
111. DiMasi J. A., Grabowski H. G., Hansen R. W. Innovation in the pharmaceutical industry: new estimates of R&D costs // Journal of health economics. — 2016. — V. 47. — P. 20-33.
112. Ferdowsian H. R., Gluck J. P. The Ethical Challenges of Animal Research: Honoring Henry Beecher's Approach to Moral Problems // Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics. — 2015. — V. 24, № 4. — P. 391-406.
113. Freires I. A., Sardi J. d. C. O., de Castro R. D., Rosalen P. L. Alternative animal and non-animal models for drug discovery and development: bonus or burden? // Pharmaceutical research. — 2017. — V. 34, № 4. — P. 681-686.
114. Solberg L. C., Horton T. H., Turek F. W. Circadian rhythms and depression: effects of exercise in an animal model // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. — 1999. — V. 276, № 1. — P. R152-R161.
115. Griebel G., Simiand J., Steinberg R., Jung M., Gully D., Roger P., Geslin M., Scatton B., Maffrand J.-P., Soubrie P. 4-(2-Chloro-4-methoxy-5-methylphenyl)-N-[(1S)-2-cyclopropyl-1-(3-fluoro-4-methylphenyl) ethyl] 5-methyl-N-(2-propynyl)-1, 3-thiazol-2-amine hydrochloride (SSR125543A), a potent and selective corticotrophin-releasing factor1 receptor antagonist. II. Characterization in rodent models of stress-related disorders // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2002. — V. 301, № 1. — P. 333-345.
116. Hendricks S., Wieseler Frank J., Shing S., Sinclair S., Staup M. Effects of chronic mild stress on behavior in the forced swim test // Abstr Soc Neurosci. — V. 27 —, 2001. — P. 736.10.
117. Fujisaki C., Utsuyama M., Kuroda Y., Watanabe A., Seidler H., Watanabe S., Kitagawa M., Hirokawa K. An immnosuppressive drug, cyclosporine-A acts like anti-depressant for rats under unpredictable chronic stress // Journal of medical and dental sciences. — 2003. — V. 50, № 1. — P. 93-100.
118. Ma X.-C., Dang Y.-H., Jia M., Ma R., Wang F., Wu J., Gao C.-G., Hashimoto K. Long-lasting antidepressant action of ketamine, but not glycogen synthase kinase-3 inhibitor SB216763, in the chronic mild stress model of mice // PLoS One. — 2013. — V. 8, № 2.
119. Ma X.-c., Jiang D., Jiang W.-h., Wang F., Jia M., Wu J., Hashimoto K., Dang Y.-h., Gao C.-g. Social isolation-induced aggression potentiates anxiety and depressive-like behavior in male mice subjected to unpredictable chronic mild stress // PloS one. — 2011. — V. 6, № 6.
120. Sikiric P., Šeparovic J., Buljat G., Anic T., Stancic-Rokotov D., Mikus D., Marovic A., Prkacin I., Duplancic B., Zoricic I. The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide BPC 157 in Porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants // Journal of Physiology-Paris. — 2000. — V. 94, № 2. — P. 99-104.
121. Badenhorst C. Behavioral endophenotypes of chronic unpredictable stress; Lethbridge, Alta.: Universtiy of Lethbridge, Department of Neuroscience, 2018.
122. José Jaime H.-P., Venus B.-C., Graciela J.-R., Tania H.-H. O., Lucía M.-M. Young-adult male rats' vulnerability to chronic mild stress is reflected by anxious-like instead of depressive-like behaviors // Neuroscience journal. — 2016. — V. 2016.

123. Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS // Neuropsychobiology. — 2005. — V. 52, № 2. — P. 90-110.
124. Кротова Н., Лакстыгал А. М., Таранов А., Ильин Н., Бытов М. В., Волгин А. Д., Амстиславская Т. Г., Демин К., Калуев А. В. Зебраданио (zebrafish) как новая перспективная модель в трансляционной нейробиологии // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. — 2019. — Т. 105, № 11. — С. 1417–1435.
125. Бабченко В. Я., Белова А. С., Баширзаде А. А. О., Тихонова М. А., Демин К. А., Забегалов К. Н., Петерсен Е. В., Калуев А. В., Амстиславская Т. Г. Модели черепно-мозговой травмы у зебраданио (Zebrafish, Danio rerio) // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. — 2021. — Т. 107, № 9. — С. 1059–1076.
126. Stewart A. M., Braubach O., Spitsbergen J., Gerlai R., Kalueff A. V. Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside // Trends in neurosciences. — 2014. — V. 37, № 5. — P. 264-278.
127. Kalueff A. V., Echevarria D. J., Stewart A. M. Gaining translational momentum: more zebrafish models for neuroscience research Elsevier, 2014.
128. 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 animal. — 2017. — V. 46, № 10. — P. 378-387.
129. Goldsmith P. Zebrafish as a pharmacological tool: the how, why and when // Current opinion in pharmacology. — 2004. — V. 4, № 5. — P. 504-512.
130. Pelegri F. Maternal factors in zebrafish development // Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists. — 2003. — V. 228, № 3. — P. 535-554.
131. Roush W. Zebrafish embryology builds better model vertebrate // Science. — 1996. — V. 272, № 5265. — P. 1103-1103.
132. Kimmel C. B. Genetics and early development of zebrafish // Trends in Genetics. — 1989. — V. 5. — P. 283-288.
133. Nasevicius A., Ekker S. C. Effective targeted gene ‘knockdown’in zebrafish // Nature genetics. — 2000. — V. 26, № 2. — P. 216-220.
134. White R., Rose K., Zon L. Zebrafish cancer: the state of the art and the path forward // Nature reviews Cancer. — 2013. — V. 13, № 9. — P. 624-636.
135. Feitsma H., Cuppen E. Zebrafish as a cancer model // Molecular Cancer Research. — 2008. — V. 6, № 5. — P. 685-694.
136. Amatruda J. F., Shepard J. L., Stern H. M., Zon L. I. Zebrafish as a cancer model system // Cancer cell. — 2002. — V. 1, № 3. — P. 229-231.
137. 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 research. — 2000. — V. 10, № 9. — P. 1351-1358.
138. 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. — 2013. — V. 496, № 7446. — P. 498-503.
139. Rico E., Rosemberg D., Seibt K., Capiotti K., Da Silva R., Bonan C. Zebrafish neurotransmitter systems as potential pharmacological and toxicological targets // Neurotoxicology and teratology. — 2011. — V. 33, № 6. — P. 608-617.
140. Panula P., Sallinen V., Sundvik M., Kolehmainen J., Torkko V., Tiittula A., Moshnyakov M., Podlasz P. Modulatory neurotransmitter systems and behavior: towards zebrafish models of neurodegenerative diseases // Zebrafish. — 2006. — V. 3, № 2. — P. 235-247.
141. 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 // Neurobiology of disease. — 2010. — V. 40, № 1. — P. 46-57.

142. Neuroanatomy of the zebrafish brain: a topological atlas. / Wulliman M. F., Rupp B., Reichert H.: Birkhäuser, 2012.
143. 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 // Behavioural brain research. — 2009. — V. 205, № 1. — P. 38-44.
144. Steenbergen P. J., Richardson M. K., Champagne D. L. The use of the zebrafish model in stress research // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2011. — V. 35, № 6. — P. 1432-1451.
145. Demin K. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Lakstygal A. M., Volgin A. D., de Abreu M. S., Strekalova T., Kalueff A. V. Understanding neurobehavioral effects of acute and chronic stress in zebrafish // Stress. — 2021. — V. 24, № 1. — P. 1-18.
146. Crofton K. M., Mundy W. R., Shafer T. J. Developmental neurotoxicity testing: a path forward // Congenital anomalies. — 2012. — V. 52, № 3. — P. 140-146.
147. de Abreu M. S., Giacomini A. C., Echevarria D. J., Kalueff A. V. Legal aspects of zebrafish neuropharmacology and neurotoxicology research // Regulatory Toxicology and Pharmacology. — 2018.
148. Kari G., Rodeck U., Dicker A. P. Zebrafish: an emerging model system for human disease and drug discovery // Clinical Pharmacology & Therapeutics. — 2007. — V. 82, № 1. — P. 70-80.
149. Ton C., Lin Y., Willett C. Zebrafish as a model for developmental neurotoxicity testing // Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology. — 2006. — V. 76, № 7. — P. 553-567.
150. Wendelaar Bonga S. E. The stress response in fish // Physiological reviews. — 1997. — V. 77, № 3. — P. 591-625.
151. Barcellos L. J. G., Ritter F., Kreutz L. C., Quevedo R. M., da Silva L. B., Bedin A. C., Finco J., Cericato L. Whole-body cortisol increases after direct and visual contact with a predator in zebrafish, Danio rerio // Aquaculture. — 2007. — V. 272, № 1-4. — P. 774-778.
152. Gerlai R. High-throughput behavioral screens: the first step towards finding genes involved in vertebrate brain function using zebrafish // Molecules. — 2010. — V. 15, № 4. — P. 2609-2622.
153. Lessman C. A. The developing zebrafish (Danio rerio): A vertebrate model for high-throughput screening of chemical libraries // Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews. — 2011. — V. 93, № 3. — P. 268-280.
154. Manuel R., Gorissen M., Zethof J., Ebbesson L. O., van de Vis H., Flik G., van den Bos R. Unpredictable chronic stress decreases inhibitory avoidance learning in Tuebingen long-fin zebrafish: stronger effects in the resting phase than in the active phase // Journal of Experimental Biology. — 2014. — V. 217, № 21. — P. 3919-3928.
155. Zimmermann F., Altenhofen S., Kist L., Leite C., Bogo M., Cognato G., Bonan C. Unpredictable chronic stress alters adenosine metabolism in zebrafish brain // Molecular neurobiology. — 2016. — V. 53, № 4. — P. 2518-2528.
156. Rambo C. L., Mocelin R., Marcon M., Villanova D., Koakoski G., de Abreu M. S., Oliveira T. A., Barcellos L. J., Piato A. L., Bonan C. D. Gender differences in aggression and cortisol levels in zebrafish subjected to unpredictable chronic stress // Physiology & behavior. — 2017. — V. 171. — P. 50-54.
157. Marcon M., Herrmann A. P., Mocelin R., Rambo C. L., Koakoski G., Abreu M. S., Conterato G. M., Kist L. W., Bogo M. R., Zanatta L. Prevention of unpredictable chronic stress-related phenomena in zebrafish exposed to bromazepam, fluoxetine and nortriptyline // Psychopharmacology. — 2016. — V. 233, № 21-22. — P. 3815-3824.
158. Piato Â. L., Capiotti K. M., Tamborski A. R., Oses 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): behavioral and physiological responses // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2011. — V. 35, № 2. — P. 561-567.

159. Champagne D. L., Hoefnagels C. C., de Kloet R. E., Richardson M. K. Translating rodent behavioral repertoire to zebrafish (Danio rerio): relevance for stress research // Behavioural brain research. — 2010. — V. 214, № 2. — P. 332-342.
160. Blaser R., Gerlai R. Behavioral phenotyping in zebrafish: comparison of three behavioral quantification methods // Behavior research methods. — 2006. — V. 38, № 3. — P. 456-469.
161. Demin K. A., Kolesnikova T. O., Galstyan D. S., Krotova N. A., Ilyin N. P., Derzhavina K. A., Levchenko N. A., Strekalova T., de Abreu M. S., Petersen E. V. Modulation of behavioral and neurochemical responses of adult zebrafish by fluoxetine, eicosapentaenoic acid and lipopolysaccharide in the prolonged chronic unpredictable stress model // Scientific reports. — 2021. — V. 11, № 1. — P. 1-15.
162. Levin E. D., Bencan Z., Cerutti D. T. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish // Physiology & behavior. — 2007. — V. 90, № 1. — P. 54-58.
163. 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 // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2018. — V. 81. — P. 384-394.
164. 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. — 2013. — V. 8, № 5.
165. López-Patiño M. A., Yu L., Cabral H., Zhdanova I. V. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish // Physiology & behavior. — 2008. — V. 93, № 1-2. — P. 160-171.
166. Wong K., Elegante M., Bartels B., Elkhayat S., Tien D., Roy S., Goodspeed J., Suciu C., Tan J., Grimes C. Analyzing habituation responses to novelty in zebrafish (Danio rerio) // Behavioural brain research. — 2010. — V. 208, № 2. — P. 450-457.
167. Gerlai R., Lee V., Blaser R. Effects of acute and chronic ethanol exposure on the behavior of adult zebrafish (Danio rerio) // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2006. — V. 85, № 4. — P. 752-761.
168. Peitsaro N., Kaslin J., Anichtchik O. V., Panula P. Modulation of the histaminergic system and behaviour by α-fluoromethylhistidine in zebrafish // Journal of neurochemistry. — 2003. — V. 86, № 2. — P. 432-441.
169. 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 // Zebrafish neurobehavioral protocolsSpringer, 2011. — P. 157-167.
170. Maximino C., da Silva A. W. B., Gouveia Jr A., Herculano A. M. Pharmacological analysis of zebrafish (Danio rerio) scototaxis // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2011. — V. 35, № 2. — P. 624-631.
171. Miller N., Gerlai R. Quantification of shoaling behaviour in zebrafish (Danio rerio) // Behavioural brain research. — 2007. — V. 184, № 2. — P. 157-166.
172. Miller N. Y., Gerlai R. Shoaling in zebrafish: what we don't know // Reviews in the Neurosciences. — 2011. — V. 22, № 1. — P. 17-25.
173. Kysil E. V., Meshalkina D. A., Frick E. E., Echevarria D. J., Rosemberg D. B., Maximino C., Lima M. G., Abreu M. S., Giacomini A. C., Barcellos L. J. Comparative analyses of zebrafish anxiety-like behavior using conflict-based novelty tests // Zebrafish. — 2017. — V. 14, № 3. — P. 197-208.
174. Maximino C., de Brito T. M., da Silva Batista A. W., Herculano A. M., Morato S., Gouveia Jr A. Measuring anxiety in zebrafish: a critical review // Behavioural brain research. — 2010. — V. 214, № 2. — P. 157-171.
175. Stewart A., Kadri F., DiLeo J., Min Chung K., Cachat J., Goodspeed J., Suciu C., Roy S., Gaikwad S., Wong K. The developing utility of zebrafish in modeling neurobehavioral disorders // International Journal of Comparative Psychology. — 2010. — V. 23, № 1.

176. Stewart A., Gaikwad S., Kyzar E., Green J., Roth A., Kalueff A. V. Modeling anxiety using adult zebrafish: a conceptual review // Neuropharmacology. — 2012. — Jan. — V. 62, № 1. — P. 135-43.
177. Blaser R., Chadwick L., McGinnis G. Behavioral measures of anxiety in zebrafish (Danio rerio) // Behavioural brain research. — 2010. — V. 208, № 1. — P. 56-62.
178. Carola V., D'Olimpio F., Brunamonti E., Mangia F., Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice // Behavioural brain research. — 2002. — V. 134, № 1-2. — P. 49-57.
179. Kulesskaya N., Voikar V. Assessment of mouse anxiety-like behavior in the light–dark box and open-field arena: role of equipment and procedure // Physiology & behavior. — 2014. — V. 133. — P. 30-38.
180. de Abreu M. S., Friend A. J., Demin K. A., Amstislavskaya T. G., Bao W., Kalueff A. V. Zebrafish models: do we have valid paradigms for depression? // Journal of pharmacological and toxicological methods. — 2018.
181. Buynitsky T., Mostofsky D. I. Restraint stress in biobehavioral research: recent developments // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2009. — V. 33, № 7. — P. 1089-1098.
182. Ghisleni G., Capiotti K. M., Da Silva R. S., Oses J. P., Piato Â. L., Soares V., Bogo M. R., Bonan C. D. The role of CRH in behavioral responses to acute restraint stress in zebrafish // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2012. — V. 36, № 1. — P. 176-182.
183. 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. — 2017. — Jul. — V. 62. — P. 27-33.
184. Genario R., Giacomini A. C., Demin K. A., dos Santos B. E., Marchiori N. I., Volgin A. D., Bashirzade A., Amstislavskaya T. G., de Abreu M. S., Kalueff A. V. The evolutionarily conserved role of melatonin in CNS disorders and behavioral regulation: Translational lessons from zebrafish // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2019. — V. 99. — P. 117-127.
185. 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. — May 8.
186. Volgin A. D., Yakovlev O. A., Demin K. A., Alekseeva P. A., Kalueff A. V. Acute behavioral effects of deliriant hallucinogens atropine and scopolamine in adult zebrafish // Behavioural brain research. — 2019. — V. 359. — P. 274-280.
187. Khan K. M., Collier A. D., Meshalkina D. A., Kysil E. V., Khatsko S. L., Kolesnikova T., Morzherin Y. Y., Warnick J. E., Kalueff A. V., Echevarria D. J. Zebrafish models in neuropsychopharmacology and CNS drug discovery // British journal of pharmacology. — 2017. — V. 174, № 13. — P. 1925-1944.
188. Genario R., de Abreu M. S., Giacomini A. C., Demin K. A., Kalueff A. V. Sex differences in behavior and neuropharmacology of zebrafish // European Journal of Neuroscience. — 2019.
189. Serikuly N., Alpyshov E. T., Wang D., Wang J., Yang L., Hu G., Yan D., Demin K. A., Kolesnikova T. O., Galstyan D. Effects of acute and chronic arecoline in adult zebrafish: Anxiolytic-like activity, elevated brain monoamines and the potential role of microglia // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2020. — P. 109977.
190. Wang D., Yang L., Wang J., Hu G., Liu Z., Yan D., Serikuly N., Alpyshov E., Demin K. A., Galstyan D. Behavioral and physiological effects of acute and chronic kava exposure in adult zebrafish // Neurotoxicology and Teratology. — 2020. — P. 106881.
191. Demin K. A., Lakstygal A. M., Chernysh M. V., Krotova N. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Seredinskaya M. V., Tagawa N., Savva A. K., Mor M. S. The zebrafish tail immobilization (ZTI) test as a new tool to assess stress-related behavior and a potential screen for drugs affecting despair-like states // Journal of Neuroscience Methods. — 2020. — P. 108637.

192. Demin K. A., Lakstygal A. M., Krotova N. A., Masharsky A., Tagawa N., Chernysh M. V., Ilyin N. P., Taranov A. S., Galstyan D. S., Derzhavina K. A. Understanding complex dynamics of behavioral, neurochemical and transcriptomic changes induced by prolonged chronic unpredictable stress in zebrafish // Scientific reports. — 2020. — V. 10, № 1. — P. 1-20.
193. Demin K. A., Kolesnikova T. O., Galstyan D. S., Krotova N. A., Ilyin N. P., Derzhavina K. A., Seredinskaya M., Kositsyn Y. M., Sorokin D. V., Nerush M. O., Khaybaev A.-A. S., Pushkareva S. A., Strekalova T., Masharsky A., Kalueff A. V. Modulation of behavioral and hippocampal transcriptomic responses in rat prolonged chronic unpredictable stress model by fluoxetine, eicosapentaenoic acid and lipopolysaccharide // bioRxiv. — 2021. — P. 2021.12.05.471274.
194. Dubbelaar M., Misrielal C., Bajramovic J., Burm S., Zuiderwijk-Sick E., Brouwer N., Grit C., Kooistra S., Shinjo S., Marie S. Transcriptional profiling of macaque microglia reveals an evolutionary preserved gene expression program // Brain, Behavior, & Immunity-Health. — 2021. — V. 15. — P. 100265.
195. Connolly N. P., Shetty A. C., Stokum J. A., Hoeschele I., Siegel M. B., Miller C. R., Kim A. J., Ho C.-Y., Davila E., Simard J. M. Cross-species transcriptional analysis reveals conserved and host-specific neoplastic processes in mammalian glioma // Scientific reports. — 2018. — V. 8, № 1. — P. 1-15.
196. The zebrafish book: a guide for the laboratory use of zebrafish (Danio rerio). / Westerfield M.: University of Oregon press, 2007.
197. Watts S. A., Powell M., D'Abramo L. R. Fundamental Approaches to the Study of Zebrafi sh Nutrition // ILAR journal. — 2012. — V. 53, № 2. — P. 144-160.
198. Xu X., Scott-Scheiern T., Kempker L., Simons K. Active avoidance conditioning in zebrafish (Danio rerio) // Neurobiology of learning and memory. — 2007. — V. 87, № 1. — P. 72-77.
199. Agetsuma M., Aizawa H., Aoki T., Nakayama R., Takahoko M., Goto M., Sassa T., Amo R., Shiraki T., Kawakami K. The habenula is crucial for experience-dependent modification of fear responses in zebrafish // Nature neuroscience. — 2010. — V. 13, № 11. — P. 1354.
200. 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 // Behavioural brain research. — 2013. — V. 236. — P. 258-269.
201. Kyzar E. J., Kalueff A. V. Exploring hallucinogen pharmacology and psychedelic medicine with zebrafish models // Zebrafish. — 2016. — V. 13, № 5. — P. 379-390.
202. Zhang S., Liu X., Sun M., Zhang Q., Li T., Li X., Xu J., Zhao X., Chen D., Feng X. Reversal of reserpine-induced depression and cognitive disorder in zebrafish by sertraline and Traditional Chinese Medicine (TCM) // Behavioral and Brain Functions. — 2018. — V. 14, № 1. — P. 13.
203. Shabanov P. D., Lebedev V. A., Lebedev A. A., Bychkov E. R. 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. — V. 15, № 3. — P. 57-63.
204. Cipriani A., Furukawa T. A., Geddes J. R., Malvini L., Signoretti A., McGuire H., Churchill R., Nakagawa A., Barbui C. Does randomized evidence support sertraline as first-line antidepressant for adults with acute major depression? A systematic review and meta-analysis, 2008.
205. Kasper S., Zivkov M., Roes K., Pols A. Pharmacological treatment of severely depressed patients: a meta-analysis comparing efficacy of mirtazapine and amitriptyline // European neuropsychopharmacology. — 1997. — V. 7, № 2. — P. 115-124.
206. Caldarone B., Karthigeyan K., Harrist A., Hunsberger J., Wittmack E., King S., Jatlow P., Picciotto M. Sex differences in response to oral amitriptyline in three animal models of depression in C57BL/6J mice // Psychopharmacology. — 2003. — V. 170, № 1. — P. 94-101.

207. Kurt M., Arik A. C., Celik S. The effects of sertraline and fluoxetine on anxiety in the elevated plus-maze test // Journal of basic and clinical physiology and pharmacology. — 2000. — V. 11, № 2. — P. 173-180.
208. Maskell P. D., De Paoli G., Seetohul L. N., Pounder D. J. Phenazepam: the drug that came in from the cold // Journal of forensic and legal medicine. — 2012. — V. 19, № 3. — P. 122-125.
209. Kriikku P., Wilhelm L., Rintatalo J., Hurme J., Kramer J., Ojanperä I. Phenazepam abuse in Finland: findings from apprehended drivers, post-mortem cases and police confiscations // Forensic science international. — 2012. — V. 220, № 1-3. — P. 111-117.
210. Epstein O., Voronina T., Molodavkin G., Belopol'skaya M., Kheyfets I., Dugina J., Sergeeva S. Study of bipathic effect of phenazepam // Bulletin of experimental biology and medicine. — 2007. — V. 144, № 4. — P. 536-538.
211. Molodavkin G., Voronina T., Chernyavskaya L., Burlakova E., Khorseva N., Seredenin S. Pharmacological activity of phenazepam and flunitrazepam in ultralow doses // Bulletin of experimental biology and medicine. — 2003. — V. 135, № 7. — P. 39-41.
212. Griessner J., Pasieka M., Böhm V., Grössl F., Kaczanowska J., Pliota P., Kargl D., Werner B., Kaouane N., Strobelt S. Central amygdala circuit dynamics underlying the benzodiazepine anxiolytic effect // Molecular psychiatry. — 2018. — P. 1-11.
213. Stock H., Foradori C., Ford K., Wilson M. A. A lack of tolerance to the anxiolytic effects of diazepam on the plus-maze: comparison of male and female rats // Psychopharmacology. — 2000. — V. 147, № 4. — P. 362-370.
214. Eckstrand K. L., Travis M. J., Forbes E. E., Phillips M. L. Sex Differences and Personalized Psychiatric Care // Biological psychiatry. — 2016. — V. 80, № 10. — P. e81-e83.
215. Jalnapurkar I., Allen M., Pigott T. Sex differences in anxiety disorders: A review // J Psychiatry Depress Anxiety. — 2018. — V. 4. — P. 012.
216. Luine V., Gomez J., Beck K., Bowman R. Sex differences in chronic stress effects on cognition in rodents // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2017. — V. 152. — P. 13-19.
217. Leger M., Neill J. C. A systematic review comparing sex differences in cognitive function in schizophrenia and in rodent models for schizophrenia, implications for improved therapeutic strategies // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2016. — V. 68. — P. 979-1000.
218. Demin K. A., Lakstygal A. M., Alekseeva P. A., Sysoev M., de Abreu M. S., Alpyshov E. T., Serikuly N., Wang D., Wang M., Tang Z. The role of intraspecies variation in fish neurobehavioral and neuropharmacological phenotypes in aquatic models // Aquatic toxicology. — 2019.
219. Volgin A. D., Yakovlev O. A., Demin K. A., Abreu M. S., Alekseeva P. A., Friend A. J., Lakstygal A. M., Amstislavskaya T. G., Bao W., Song C., Kalueff A. V. Zebrafish models for personalized psychiatry: Insights from individual, strain and sex differences, and modeling gene x environment interactions // Journal of Neuroscience Research. — 2018. — V. 0, № 0.
220. Gupta T., Mullins M. C. Dissection of organs from the adult zebrafish // JoVE (Journal of Visualized Experiments). — 2010. № 37. — P. e1717.
221. Kafkafi N., Agassi J., Chesler E. J., Crabbe J. C., Crusio W. E., Eilam D., Gerlai R., Golani I., Gomez-Marin A., Heller R., Iraqi F., Jaljuli I., Karp N. A., Morgan H., Nicholson G., Pfaff D. W., Richter S. H., Stark P. B., Stiedl O., Stodden V., Tarantino L. M., Tucci V., Valdar W., Williams R. W., Würbel H., Benjamini Y. Reproducibility and replicability of rodent phenotyping in preclinical studies // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2018. — 2018/04/01/. — V. 87. — P. 218-232.
222. Guttinger S. The limits of replicability // European Journal for Philosophy of Science. — 2020. — V. 10, № 2. — P. 10.
223. Gerlai R. Reproducibility and replicability in zebrafish behavioral neuroscience research // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2019. — V. 178. — P. 30-38.

224. Bohlen M., Hayes E. R., Bohlen B., Bailoo J. D., Crabbe J. C., Wahlsten D. Experimenter effects on behavioral test scores of eight inbred mouse strains under the influence of ethanol // Behavioural brain research. — 2014. — V. 272. — P. 46-54.
225. Hånell A., Marklund N. Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research // Frontiers in behavioral neuroscience. — 2014. — V. 8. — P. 252.
226. Georgiou P., Zanos P., Jenne C., Highland J., Gerhard D., Duman R., Gould T. F102. Human Experimenter Sex Modulates Mouse Behavioral Responses to Stress and to the Antidepressant Ketamine // Biological Psychiatry. — 2018. — V. 83, № 9. — P. S277.
227. Noldus L. P., Spink A. J., Tegelenbosch R. A. EthoVision: a versatile video tracking system for automation of behavioral experiments // Behav Res Methods Instrum Comput. — 2001. — Aug. — V. 33, № 3. — P. 398-414.
228. Wong K., Stewart A., Gilder T., Wu N., Frank K., Gaikwad S., Suciu C., DiLeo J., Utterback E., Chang K. Modeling seizure-related behavioral and endocrine phenotypes in adult zebrafish // Brain research. — 2010. — V. 1348. — P. 209-215.
229. Stewart A. M., Kaluyeva A. A., Poudel M. K., Nguyen M., Song C., Kalueff A. V. Building zebrafish neurobehavioral phenomics: effects of common environmental factors on anxiety and locomotor activity // Zebrafish. — 2015. — V. 12, № 5. — P. 339-348.
230. Flügge G., van Kampen M., Mijnster M. J. Perturbations in brain monoamine systems during stress // Cell and tissue research. — 2004. — V. 315, № 1. — P. 1-14.
231. Dishman R. K. Brain monoamines, exercise, and behavioral stress: animal models // Medicine & Science in Sports & Exercise. — 1997. — V. 29, № 1. — P. 63-74.
232. Elhwuegi A. S. Central monoamines and their role in major depression // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2004. — V. 28, № 3. — P. 435-451.
233. Wang J., Li Y., Lai K., Zhong Q., Demin K. A., Kalueff A. V., Song C. High-glucose/high-cholesterol diet in zebrafish evokes diabetic and affective pathogenesis: The role of peripheral and central inflammation, microglia and apoptosis // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2020. — V. 96. — P. 109752.
234. Chernysh M., Demin K., Lakstygal A., Avdeeva V., Kalueff A. Fluoxetine exposure improves zebrafish performance in the aquatic tail immobilization test // 26th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference "Stress and Behavior" — Saint-Petersburg, Russia, 2019. —.
235. Krotova N., Timofeeva V., Demin K., Lakstygal A., Kalueff A. Effects of sertraline exposure on adult zebrafish in the aquatic tail immobilization test // 26th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference "Stress and Behavior" — Saint-Petersburg, Russia, 2019. —.
236. Armario A., Gil M., Marti J., Pol O., Balasch J. Influence of various acute stressors on the activity of adult male rats in a holeboard and in the forced swim test // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 1991. — V. 39, № 2. — P. 373-377.
237. Swiergiel A. H., Leskov I. L., Dunn A. J. Effects of chronic and acute stressors and CRF on depression-like behavior in mice // Behavioural brain research. — 2008. — V. 186, № 1. — P. 32-40.
238. Haj-Mirzaian A., Ostadhadi S., Kordjazy N., Dehpour A. R., Mehr S. E. Opioid/NMDA receptors blockade reverses the depressant-like behavior of foot shock stress in the mouse forced swimming test // European journal of pharmacology. — 2014. — V. 735. — P. 26-31.
239. Valvassori S. S., Budni J., Varela R. B., Quevedo J. Contributions of animal models to the study of mood disorders // Revista Brasileira de Psiquiatria. — 2013. — V. 35. — P. S121-S131.
240. Lucki I., Dalvi A., Mayorga A. J. Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice // Psychopharmacology. — 2001. — V. 155, № 3. — P. 315-322.

241. Thierry B., Steru L., Chermat R., Simon P. Searching—waiting strategy: A candidate for an evolutionary model of depression? // Behavioral and neural biology. — 1984. — V. 41, № 2. — P. 180-189.
242. Dixon A. Ethological strategies for defence in animals and humans: their role in some psychiatric disorders // British Journal of Medical Psychology. — 1998. — V. 71, № 4. — P. 417-445.
243. Gilbert P., Allan S. The role of defeat and entrapment (arrested flight) in depression: an exploration of an evolutionary view // Psychological medicine. — 1998. — V. 28, № 3. — P. 585-598.
244. Gilbert P., Gilbert J. Entrapment and arrested fight and flight in depression: An exploration using focus groups // Psychology and Psychotherapy: Theory, Research and Practice. — 2003. — V. 76, № 2. — P. 173-188.
245. Weingartner H. Model of cognitive impairment: Cognitive changes in depression // Psychopharmacol Bull. — 1982. — V. 18. — P. 27-42.
246. Kawahara H., Yoshida M., Yokoo H., Nishi M., Tanaka M. Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdala and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis // Neuroscience letters. — 1993. — V. 162, № 1-2. — P. 81-84.
247. Dunn A. J. Stress-Related Activation of Cerebral Dopaminergic Systems a // Annals of the New York Academy of Sciences. — 1988. — V. 537, № 1. — P. 188-205.
248. Funada M., Hara C. Differential effects of psychological stress on activation of the 5-hydroxytryptamine-and dopamine-containing neurons in the brain of freely moving rats // Brain research. — 2001. — V. 901, № 1-2. — P. 247-251.
249. Emerson A. J., Kappenman D. P., Ronan P. J., Renner K. J., Summers C. H. Stress induces rapid changes in serotonergic activity: restraint and exertion // Behavioural brain research. — 2000. — V. 111, № 1-2. — P. 83-92.
250. Gesto M., López-Patiño M. A., Hernández J., Soengas J. L., Míguez J. M. The response of brain serotonergic and dopaminergic systems to an acute stressor in rainbow trout: a time course study // Journal of Experimental Biology. — 2013. — V. 216, № 23. — P. 4435-4442.
251. Gesto M., López-Patiño M., Hernández J., Soengas J., Míguez J. Gradation of the stress response in rainbow trout exposed to stressors of different severity: the role of brain serotonergic and dopaminergic systems // Journal of neuroendocrinology. — 2015. — V. 27, № 2. — P. 131-141.
252. Connor T. J., Kelly J. P., Leonard B. E. Forced swim test-induced neurochemical, endocrine, and immune changes in the rat // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 1997. — V. 58, № 4. — P. 961-967.
253. Renard C. E., Dailly E., David D. J., Hascoet M., Bourin M. Monoamine metabolism changes following the mouse forced swimming test but not the tail suspension test // Fundamental & clinical pharmacology. — 2003. — V. 17, № 4. — P. 449-455.
254. Fuzzen M. L., Van Der Kraak G., Bernier N. J. Stirring up new ideas about the regulation of the hypothalamic-pituitary-interrenal axis in zebrafish (Danio rerio) // Zebrafish. — 2010. — V. 7, № 4. — P. 349-358.
255. Pavlidis M., Theodoridi A., Tsalafouta A. Neuroendocrine regulation of the stress response in adult zebrafish, Danio rerio // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. — 2015. — V. 60. — P. 121-131.
256. Mocelin R., Herrmann A. P., Marcon M., Rambo C. L., Rohden A., Bevilaqua F., de Abreu M. S., Zanatta L., Elisabetsky E., Barcellos L. J. N-acetylcysteine prevents stress-induced anxiety behavior in zebrafish // Pharmacology Biochemistry and Behavior. — 2015. — V. 139. — P. 121-126.
257. Drossopoulou G., Antoniou K., Kitraki E., Papathanasiou G., Papalexi E., Dalla C., Papadopoulou-Daifoti Z. Sex differences in behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects induced by the forced swim test in rats // Neuroscience. — 2004. — V. 126, № 4. — P. 849-857.
258. de Abreu M. S., Koakoski G., Ferreira D., Oliveira T. A., da Rosa J. G. S., Gusso D., Giacomini A. C. V., Piato A. L., Barcellos L. J. G. Diazepam and Fluoxetine Decrease the Stress Response in Zebrafish // Plos One. — 2014. — Jul. — V. 9, № 7. — P. 5.

259. Aponte A., Petrunich-Rutherford M. L. Acute net stress of young adult zebrafish (Danio rerio) is not sufficient to increase anxiety-like behavior and whole-body cortisol // PeerJ. — 2019. — V. 7. — P. e7469-e7469.
260. Abreu M. S., Giacomini A. C. V., Koakoski G., Oliveira T. A., Gusso D., Baldisserotto B., Barcellos L. J. G. Effects of waterborne fluoxetine on stress response and osmoregulation in zebrafish // Environmental Toxicology and Pharmacology. — 2015. — Nov. — V. 40, № 3. — P. 704-707.
261. Nema S., Hasan W., Bhargava A., Bhargava Y. A novel method for automated tracking and quantification of adult zebrafish behaviour during anxiety // Journal of neuroscience methods. — 2016. — V. 271. — P. 65-75.
262. Franco-Restrepo J. E., Forero D. A., Vargas R. A. A review of freely available, open-source software for the automated analysis of the behavior of adult zebrafish // Zebrafish. — 2019. — V. 16, № 3. — P. 223-232.
263. Demin K. A., Lakstygal A. M., Volgin A. D., de Abreu M. S., Genario R., Alpyshov E. T., Serikuly N., Wang D., Wang J., Yan D. Cross-species analyses of intra-species behavioral differences in mammals and fish // Neuroscience. — 2020.
264. Wang J., Wang D., Hu G., Yang L., Yan D., Wang M., Serikuly N., Alpyshov E., Amstislavskaya T. G., Demin K. A. A new method for vibration-based neurophenotyping of zebrafish // Journal of Neuroscience Methods. — 2019. — P. 108563.
265. Richter S. H., Garner J. P., Würbel H. Environmental standardization: cure or cause of poor reproducibility in animal experiments? // Nature methods. — 2009. — V. 6, № 4. — P. 257.
266. Voelkl B., Vogt L., Sena E. S., Würbel H. Reproducibility of preclinical animal research improves with heterogeneity of study samples // PLoS biology. — 2018. — V. 16, № 2.
267. The principles of humane experimental technique. / Russell W. M. S., Burch R. L.: Methuen, 1959.
268. Kim J. Y., Yang S. H., Kwon J., Lee H. W., Kim H. Mice subjected to uncontrollable electric shocks show depression-like behaviors irrespective of their state of helplessness // Behavioural brain research. — 2017. — V. 322. — P. 138-144.
269. Cooper G. L. The safety of fluoxetine-an update // The British Journal of Psychiatry. — 1988. — V. 153, № S3. — P. 77-86.
270. Bergstrom R., Lemberger L., Farid N., Wolen R. Clinical pharmacology and pharmacokinetics of fluoxetine: a review // The British Journal of Psychiatry. — 1988. — V. 153, № S3. — P. 47-50.
271. Chouinard G. A double-blind controlled clinical trial of fluoxetine and amitriptyline in the treatment of outpatients with major depressive disorder // The Journal of clinical psychiatry. — 1985. — V. 46, № 3 Pt 2. — P. 32-37.
272. Liu X.-L., Luo L., Mu R.-H., Liu B.-B., Geng D., Liu Q., Yi L.-T. Fluoxetine regulates mTOR signalling in a region-dependent manner in depression-like mice // Scientific reports. — 2015. — V. 5, № 1. — P. 1-11.
273. Nollet M., Gaillard P., Minier F., Tanti A., Belzung C., Leman S. Activation of orexin neurons in dorsomedial/perifornical hypothalamus and antidepressant reversal in a rodent model of depression // Neuropharmacology. — 2011. — V. 61, № 1-2. — P. 336-346.
274. Christiansen S., Olesen M. V., Wörtwein G., Woldbye D. P. D. Fluoxetine reverts chronic restraint stress-induced depression-like behaviour and increases neuropeptide Y and galanin expression in mice // Behavioural brain research. — 2011. — V. 216, № 2. — P. 585-591.
275. Hodes G. E., Hill-Smith T. E., Lucki I. Fluoxetine treatment induces dose dependent alterations in depression associated behavior and neural plasticity in female mice // Neuroscience letters. — 2010. — V. 484, № 1. — P. 12-16.
276. Abreu M. S., Giacomini A. C., Kalueff A. V., Barcellos L. J. The smell of “anxiety”: behavioral modulation by experimental anosmia in zebrafish // Physiology & behavior. — 2016. — V. 157. — P. 67-71.

277. Wong R. Y., Oxendine S. E., Godwin J. Behavioral and neurogenomic transcriptome changes in wild-derived zebrafish with fluoxetine treatment // BMC genomics. — 2013. — V. 14, № 1. — P. 348.
278. Song C., Yang L., Wang J., Chen P., Li S., Liu Y., Nguyen M., Kaluyeva A., Kyzar E. J., Gaikwad S. Building neurophenomics in zebrafish: effects of prior testing stress and test batteries // Behavioural brain research. — 2016. — V. 311. — P. 24-30.
279. Blaser R. E., Rosemberg D. B. Measures of anxiety in zebrafish (Danio rerio): dissociation of black/white preference and novel tank test // PloS one. — 2012. — V. 7, № 5.
280. 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 // Zebrafish protocols for neurobehavioral researchSpringer, 2012. — P. 231-246.
281. Miller N., Gerlai R. From schooling to shoaling: patterns of collective motion in zebrafish (Danio rerio) // PLoS One. — 2012. — V. 7, № 11. — P. e48865.
282. 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. — 2013. — Mar. — V. 10, № 1. — P. 70-86.
283. de Medeiros G. F., Minni A. M., Helbling J.-C., Moisan M.-P. Chronic stress does not further exacerbate the abnormal psychoneuroendocrine phenotype of Cbg-deficient male mice // Psychoneuroendocrinology. — 2016. — V. 70. — P. 33-37.
284. Che Y., Zhou Z., Shu Y., Zhai C., Zhu Y., Gong S., Cui Y., Wang J.-F. Chronic unpredictable stress impairs endogenous antioxidant defense in rat brain // Neuroscience letters. — 2015. — V. 584. — P. 208-213.
285. Bielajew C., Konkle A., Kentner A., Baker S., Stewart A., Hutchins A., Santa-Maria Barbagallo L., Fouriezos G. Strain and gender specific effects in the forced swim test: effects of previous stress exposure // Stress. — 2003. — V. 6, № 4. — P. 269-280.
286. Mu Y., Li X.-q., Zhang B., Du J.-l. Visual input modulates audiomotor function via hypothalamic dopaminergic neurons through a cooperative mechanism // Neuron. — 2012. — V. 75, № 4. — P. 688-699.
287. Zabegalov K. N., Kolesnikova T. O., Khatsko S. L., Volgin A. D., Yakovlev O. A., Amstislavskaya T. G., Friend A. J., Bao W., Alekseeva P. A., Lakstygal A. M. Understanding zebrafish aggressive behavior // Behavioural processes. — 2019. — V. 158. — P. 200-210.
288. Pfaffl M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR // Nucleic acids research. — 2001. — V. 29, № 9. — P. e45-e45.
289. Pfaffl M. W. Relative quantification // Real-time PCR. — 2006. — V. 63. — P. 63-82.
290. Nelder J. A., Wedderburn R. W. Generalized linear models // Journal of the Royal Statistical Society: Series A (General). — 1972. — V. 135, № 3. — P. 370-384.
291. Casals M., Girabent-Farres M., Carrasco J. L. Methodological quality and reporting of generalized linear mixed models in clinical medicine (2000–2012): a systematic review // PloS one. — 2014. — V. 9, № 11.
292. Generalized linear models. / McCullagh P.: Routledge, 2018.
293. An introduction to generalized linear models. / Dobson A. J., Barnett A. G.: CRC press, 2018.
294. Goodman A. C., Wong R. Y. Differential effects of ethanol on behavior and GABA A receptor expression in adult zebrafish (Danio rerio) with alternative stress coping styles // Scientific Reports. — 2020. — V. 10, № 1. — P. 1-11.
295. Liu C., Cripe T. P., Kim M.-O. Statistical issues in longitudinal data analysis for treatment efficacy studies in the biomedical sciences // Molecular Therapy. — 2010. — V. 18, № 9. — P. 1724-1730.

296. Analysis of longitudinal data. / Diggle P., Diggle P. J., Heagerty P., Liang K.-Y., Heagerty P. J., Zeger S.: Oxford University Press, 2002.
297. Burnham K. P., Anderson D. R. Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection // Sociological methods & research. — 2004. — V. 33, № 2. — P. 261-304.
298. Akaike H. A new look at the statistical model identification // IEEE transactions on automatic control. — 1974. — V. 19, № 6. — P. 716-723.
299. Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting. / Motulsky H., Christopoulos A.: Oxford University Press, 2004.
300. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2017.
301. ggplot2: elegant graphics for data analysis. / Wickham H.: Springer, 2016.
302. Dobin A., Davis C. A., Schlesinger F., Drenkow J., Zaleski C., Jha S., Batut P., Chaisson M., Gingeras T. R. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner // Bioinformatics. — 2013. — V. 29, № 1. — P. 15-21.
303. Liao Y., Smyth G. K., Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features // Bioinformatics. — 2014. — V. 30, № 7. — P. 923-930.
304. Huber W., Carey V. J., Gentleman R., Anders S., Carlson M., Carvalho B. S., Bravo H. C., Davis S., Gatto L., Girke T., Gottardo R., Hahne F., Hansen K. D., Irizarry R. A., Lawrence M., Love M. I., MacDonald J., Obenchain V., Oles A. K., Pages H., Reyes A., Shannon P., Smyth G. K., Tenenbaum D., Waldron L., Morgan M. Orchestrating high-throughput genomic analysis with Bioconductor // Nat Meth. — 2015. — 02//print. — V. 12, № 2. — P. 115-121.
305. Love M. I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 // Genome Biology. — 2014. — December 05. — V. 15, № 12. — P. 550.
306. Schurch N. J., Schofield P., Gierliński M., Cole C., Sherstnev A., Singh V., Wrobel N., Gharbi K., Simpson G. G., Owen-Hughes T., Blaxter M., Barton G. J. How many biological replicates are needed in an RNA-seq experiment and which differential expression tool should you use? // RNA. — 2016. — 08/13/received/02/17/accepted. — V. 22, № 6. — P. 839-851.
307. Subramanian A., Tamayo P., Mootha V. K., Mukherjee S., Ebert B. L., Gillette M. A., Paulovich A., Pomeroy S. L., Golub T. R., Lander E. S. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2005. — V. 102, № 43. — P. 15545-15550.
308. Kim S.-Y., Volsky D. J. PAGE: parametric analysis of gene set enrichment // BMC bioinformatics. — 2005. — V. 6, № 1. — P. 144.
309. Nam D., Kim S.-Y. Gene-set approach for expression pattern analysis // Briefings in bioinformatics. — 2008. — V. 9, № 3. — P. 189-197.
310. Tian L., Greenberg S. A., Kong S. W., Altschuler J., Kohane I. S., Park P. J. Discovering statistically significant pathways in expression profiling studies // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2005. — V. 102, № 38. — P. 13544-13549.
311. Luo W., Friedman M. S., Shedden K., Hankenson K. D., Woolf P. J. GAGE: generally applicable gene set enrichment for pathway analysis // BMC Bioinformatics. — 2009. — May 27. — V. 10. — P. 161.
312. Kanehisa M., Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes // Nucleic acids research. — 2000. — V. 28, № 1. — P. 27-30.
313. Ashburner M., Ball C. A., Blake J. A., Botstein D., Butler H., Cherry J. M., Davis A. P., Dolinski K., Dwight S. S., Eppig J. T. Gene ontology: tool for the unification of biology // Nature genetics. — 2000. — V. 25, № 1. — P. 25-29.
314. Luo W. Generally Applicable Gene-set/Pathway Analysis //. — 2017.
315. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N. S., Wang J. T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks // Genome Res. — 2003. — Nov. — V. 13, № 11. — P. 2498-504.

316. Smoot M. E., Ono K., Ruscheinski J., Wang P. L., Ideker T. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization // Bioinformatics. — 2011. — Feb 01. — V. 27, № 3. — P. 431-2.
317. Szklarczyk D., Gable A. L., Lyon D., Junge A., Wyder S., Huerta-Cepas J., Simonovic M., Doncheva N. T., Morris J. H., Bork P. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets // Nucleic acids research. — 2019. — V. 47, № D1. — P. D607-D613.
318. Chin C. H., Chen S. H., Wu H. H., Ho C. W., Ko M. T., Lin C. Y. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome // BMC Syst Biol. — 2014. — V. 8 Suppl 4. — P. S11.
319. Freeman L. C. A set of measures of centrality based on betweenness // Sociometry. — 1977. — P. 35-41.
320. Yu H., Kim P. M., Sprecher E., Trifonov V., Gerstein M. The importance of bottlenecks in protein networks: correlation with gene essentiality and expression dynamics // PLoS computational biology. — 2007. — V. 3, № 4.
321. Lin C. Y., Chin C. H., Wu H. H., Chen S. H., Ho C. W., Ko M. T. Hubba: hub objects analyzer--a framework of interactome hubs identification for network biology // Nucleic Acids Res. — 2008. — Jul 01. — V. 36, № Web Server issue. — P. W438-43.
322. Montojo J., Zuberi K., Rodriguez H., Kazi F., Wright G., Donaldson S. L., Morris Q., Bader G. D. GeneMANIA Cytoscape plugin: fast gene function predictions on the desktop // Bioinformatics. — 2010. — Nov 15. — V. 26, № 22. — P. 2927-8.
323. Montojo J., Zuberi K., Rodriguez H., Bader G. D., Morris Q. GeneMANIA: Fast gene network construction and function prediction for Cytoscape // F1000Res. — 2014. — V. 3. — P. 153.
324. Warde-Farley D., Donaldson S. L., Comes O., Zuberi K., Badrawi R., Chao P., Franz M., Grouios C., Kazi F., Lopes C. T. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function // Nucleic acids research. — 2010. — V. 38, № suppl_2. — P. W214-W220.
325. Demin K. A., Lakstygal A. M., Alekseeva P. A., Sysoev M., de Abreu M. S., Alpyshov E. T., Serikuly N., Wang D., Wang M., Tang Z. The role of intraspecies variation in fish neurobehavioral and neuropharmacological phenotypes in aquatic models // Aquatic Toxicology. — 2019. — V. 210. — P. 44-55.
326. Branchi I. The double edged sword of neural plasticity: increasing serotonin levels leads to both greater vulnerability to depression and improved capacity to recover // Psychoneuroendocrinology. — 2011. — V. 36, № 3. — P. 339-351.
327. Cowen P. J., Browning M. What has serotonin to do with depression? // World Psychiatry. — 2015. — V. 14, № 2. — P. 158.
328. Kraus C., Castrén E., Kasper S., Lanzenberger R. Serotonin and neuroplasticity–links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2017. — V. 77. — P. 317-326.
329. Nautiyal K. M., Hen R. Serotonin receptors in depression: from A to B // F1000Research. — 2017. — V. 6.
330. Dellu-Hagedorn F., Fitoussi A., De Deurwaerdère P. Correlative analysis of dopaminergic and serotonergic metabolism across the brain to study monoaminergic function and interaction // Journal of Neuroscience Methods. — 2017. — V. 280. — P. 54-63.
331. Whitestone S., De Deurwaerdère P., Baassiri L., Manem J., Anouar Y., Di Giovanni G., Bharatiya R., Chagraoui A. Effect of the 5-HT2C Receptor Agonist WAY-163909 on Serotonin and Dopamine Metabolism across the Rat Brain: A Quantitative and Qualitative Neurochemical Study // International journal of molecular sciences. — 2019. — V. 20, № 12. — P. 2925.

332. Fulcher N., Tran S., Shams S., Chatterjee D., Gerlai R. Neurochemical and behavioral responses to unpredictable chronic mild stress following developmental isolation: the zebrafish as a model for major depression // Zebrafish. — 2017. — V. 14, № 1. — P. 23-34.
333. Huang V., Butler A. A., Lubin F. D. Telencephalon transcriptome analysis of chronically stressed adult zebrafish // Scientific reports. — 2019. — V. 9, № 1. — P. 1-9.
334. Leboyer M., Soreca I., Scott J., Frye M., Henry C., Tamouza R., Kupfer D. J. Can bipolar disorder be viewed as a multi-system inflammatory disease? // Journal of affective disorders. — 2012. — V. 141, № 1. — P. 1-10.
335. Leu S.-J., Shiah I.-S., Yatham L. N., Cheu Y.-M., Lam R. W. Immune–inflammatory markers in patients with seasonal affective disorder: effects of light therapy // Journal of affective disorders. — 2001. — V. 63, № 1-3. — P. 27-34.
336. Rothermundt M., Arolt V., Peters M., Gutbrodt H., Fenker J., Kersting A., Kirchner H. Inflammatory markers in major depression and melancholia // Journal of affective disorders. — 2001. — V. 63, № 1-3. — P. 93-102.
337. Tsai S.-Y., Chung K.-H., Wu J.-Y., Kuo C.-J., Lee H.-C., Huang S.-H. Inflammatory markers and their relationships with leptin and insulin from acute mania to full remission in bipolar disorder // Journal of affective disorders. — 2012. — V. 136, № 1-2. — P. 110-116.
338. Miller A. H., Maletic V., Raison C. L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression // Biological psychiatry. — 2009. — V. 65, № 9. — P. 732-741.
339. Naninck E., Lucassen P., Bakker J. Sex differences in adolescent depression: do sex hormones determine vulnerability? // Journal of neuroendocrinology. — 2011. — V. 23, № 5. — P. 383-392.
340. Almeida O. P., Waterreus A., Spry N., Flicker L., Martins R. N. One year follow-up study of the association between chemical castration, sex hormones, beta-amyloid, memory and depression in men // Psychoneuroendocrinology. — 2004. — V. 29, № 8. — P. 1071-1081.
341. Erdinçler D., Bugay G., Ertan T., Eker E. Depression and sex hormones in elderly women // Archives of gerontology and geriatrics. — 2004. — V. 39, № 3. — P. 239-244.
342. Walf A. A., Frye C. A. A review and update of mechanisms of estrogen in the hippocampus and amygdala for anxiety and depression behavior // Neuropsychopharmacology. — 2006. — V. 31, № 6. — P. 1097-1111.
343. Hansen P.-D., Dizer H., Hock B., Marx A., Sherry J., McMaster M., Blaise C. Vitellogenin–a biomarker for endocrine disruptors // TrAC Trends in Analytical Chemistry. — 1998. — V. 17, № 7. — P. 448-451.
344. Lim E., Ding J., Lam T. Estradiol-induced vitellogenin gene expression in a teleost fish, Oreochromis aureus // General and comparative endocrinology. — 1991. — V. 82, № 2. — P. 206-214.
345. Knapp B., Wolfrum U. Adhesion GPCR-related protein networks // Adhesion G Protein-coupled ReceptorsSpringer, 2016. — P. 147-178.
346. Folts C. J., Giera S., Li T., Piao X. Adhesion G protein-coupled receptors as drug targets for neurological diseases // Trends in pharmacological sciences. — 2019.
347. Okajima D., Kudo G., Yokota H. Antidepressant-like behavior in brain-specific angiogenesis inhibitor 2-deficient mice // The Journal of Physiological Sciences. — 2011. — V. 61, № 1. — P. 47-54.
348. Gurevich V. V., Gurevich E. V. The structural basis of arrestin-mediated regulation of G-protein-coupled receptors // Pharmacology & therapeutics. — 2006. — V. 110, № 3. — P. 465-502.
349. Lefkowitz R. J., Shenoy S. K. Transduction of receptor signals by ß-arrestins // Science. — 2005. — V. 308, № 5721. — P. 512-517.
350. Gurevich E. V., Gurevich V. V. Arrestins: ubiquitous regulators of cellular signaling pathways // Genome biology. — 2006. — V. 7, № 9. — P. 236.

351. Violin J. D., Lefkowitz R. J. β-Arrestin-biased ligands at seven-transmembrane receptors // Trends in pharmacological sciences. — 2007. — V. 28, № 8. — P. 416-422.
352. Schreiber G., Golan M., Avissar S. Beta-arrestin signaling complex as a target for antidepressants and as a depression marker // Drug News Perspect. — 2009. — V. 22, № 8. — P. 467-480.
353. Avissar S., Matuzany-Ruban A., Tzukert K., Schreiber G. β-arrestin-1 levels: reduced in leukocytes of patients with depression and elevated by antidepressants in rat brain // American Journal of Psychiatry. — 2004. — V. 161, № 11. — P. 2066-2072.
354. Matuzany-Ruban A., Avissar S., Schreiber G. Dynamics of beta-arrestin1 protein and mRNA levels elevation by antidepressants in mononuclear leukocytes of patients with depression // Journal of affective disorders. — 2005. — V. 88, № 3. — P. 307-312.
355. Schmid C. L., Raehal K. M., Bohn L. M. Agonist-directed signaling of the serotonin 2A receptor depends on β-arrestin-2 interactions in vivo // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2008. — V. 105, № 3. — P. 1079-1084.
356. Kommaddi R. P., Shenoy S. K. Arrestins and protein ubiquitination // Progress in molecular biology and translational scienceElsevier, 2013. — P. 175-204.
357. Golan M., Schreiber G., Avissar S. Antidepressants increase β-arrestin2 ubiquitinylation and degradation by the proteasomal pathway in C6 rat glioma cells // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2010. — V. 332, № 3. — P. 970-976.
358. The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals. / Hubrecht R. C., Kirkwood J.: John Wiley & Sons, 2010.
359. Beiko J., Lander R., Hampson E., Boon F., Cain D. P. Contribution of sex differences in the acute stress response to sex differences in water maze performance in the rat // Behavioural brain research. — 2004. — V. 151, № 1-2. — P. 239-253.
360. Luine V. Sex differences in chronic stress effects on memory in rats // Stress. — 2002. — V. 5, № 3. — P. 205-216.
361. Bowman R. E., Beck K. D., Luine V. N. Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity // Hormones and behavior. — 2003. — V. 43, № 1. — P. 48-59.
362. Ter Horst G. J., Wichmann R., Gerrits M., Westenbroek C., Lin Y. Sex differences in stress responses: focus on ovarian hormones // Physiology & behavior. — 2009. — V. 97, № 2. — P. 239-249.
363. Henningsen K., Andreasen J. T., Bouzinova E. V., Jayatissa M. N., Jensen M. S., Redrobe J. P., Wiborg O. Cognitive deficits in the rat chronic mild stress model for depression: relation to anhedonic-like responses // Behavioural brain research. — 2009. — V. 198, № 1. — P. 136-141.
364. Sanchez C., Gruca P., Papp M. R-citalopram counteracts the antidepressant-like effect of escitalopram in a rat chronic mild stress model // Behavioural pharmacology. — 2003. — V. 14, № 5. — P. 465-470.
365. Rygula R., Abumaria N., Domenici E., Hiemke C., Fuchs E. Effects of fluoxetine on behavioral deficits evoked by chronic social stress in rats // Behavioural brain research. — 2006. — V. 174, № 1. — P. 188-192.
366. Pellow S., File S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat // Pharmacology biochemistry and behavior. — 1986. — V. 24, № 3. — P. 525-529.
367. Labonté B., Engmann O., Purushothaman I., Menard C., Wang J., Tan C., Scarpa J. R., Moy G., Loh Y.-H. E., Cahill M. Sex-specific transcriptional signatures in human depression // Nature medicine. — 2017. — V. 23, № 9. — P. 1102-1111.
368. Spitzer R. L., Williams J. B., Gibbon M., First M. B. The structured clinical interview for DSM-III-R (SCID): I: history, rationale, and description // Archives of general psychiatry. — 1992. — V. 49, № 8. — P. 624-629.

369. Papp E. A., Leergaard T. B., Calabrese E., Johnson G. A., Bjaalie J. G. Waxholm Space atlas of the Sprague Dawley rat brain // Neuroimage. — 2014. — V. 97. — P. 374-386.
370. Neuroanatomy: an atlas of structures, sections, and systems. / Haines D. E.: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. — V. 2004.
371. Nolte J. The human brain: an introduction to its functional neuroanatomy // Mosby: St Louis. — 2002.
372. Afgan E., Baker D., Batut B., Van Den Beek M., Bouvier D., Čech M., Chilton J., Clements D., Coraor N., Grüning B. A. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update // Nucleic acids research. — 2018. — V. 46, № W1. — P. W537-W544.
373. Demin K. A., Kalueff A. V. Understanding translational and evolutionary conservative molecular biomarkers of affective disorders in the zebrafish, rat and human // 28th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference “Stress and Behavior”. — Saint Petersburg, Russia: The International Stress and Behavior Society, 2021.
374. Mancarci O., French L. Homologene: quick access to homologene and gene annotation updates // R package version. — 2019. — V. 1. — P. 68.
375. Gearing L. J., Cumming H. E., Chapman R., Finkel A. M., Woodhouse I. B., Luu K., Gould J. A., Forster S. C., Hertzog P. J. CiiiDER: A tool for predicting and analysing transcription factor binding sites // PloS one. — 2019. — V. 14, № 9. — P. e0215495.
376. Fisher R. A. Statistical methods for research workers // Statistical methods for research workers. — 1946. № 10th. ed.
377. Marot G., Jaffrézic F., Rau A. metaRNASeq: Differential meta-analysis of RNA-seq data // dim (param). — 2020. — V. 1, № 26408. — P. 3.
378. Panahi B., Frahadian M., Dums J. T., Hejazi M. A. Integration of cross species RNA-Seq meta-analysis and machine-learning models identifies the most important salt stress–responsive pathways in microalga Dunaliella // Frontiers in genetics. — 2019. — V. 10. — P. 752.
379. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N. S., Wang J. T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks // Genome research. — 2003. — V. 13, № 11. — P. 2498-2504.
380. Zhou G., Xia J. OmicsNet: a web-based tool for creation and visual analysis of biological networks in 3D space // Nucleic acids research. — 2018. — V. 46, № W1. — P. W514-W522.
381. Zheng C.-H., Yuan L., Sha W., Sun Z.-L. Gene differential coexpression analysis based on biweight correlation and maximum clique // BMC bioinformatics. — V. 15 —Springer, 2014. — P. 1-7.
382. Jiao Q.-J., Shen H.-B. Maximum-clique algorithm: an effective method to mine large-scale co-expressed genes in arabidopsis anther // Proceedings of the 30th Chinese Control Conference — IEEE, 2011. — P. 5650-5655.
383. Amgalan B., Lee H. WMAXC: a weighted maximum clique method for identifying condition-specific sub-network // PloS one. — 2014. — V. 9, № 8. — P. e104993.
384. Pradhan M. P., Nagulapalli K., Palakal M. J. Cliques for the identification of gene signatures for colorectal cancer across population // BMC systems biology. — 2012. — V. 6, № 3. — P. 1-17.
385. Luce R. D., Perry A. D. A method of matrix analysis of group structure // Psychometrika. — 1949. — V. 14, № 2. — P. 95-116.
386. Akkoyunlu E. A. The enumeration of maximal cliques of large graphs // SIAM Journal on Computing. — 1973. — V. 2, № 1. — P. 1-6.
387. Mistry J., Chuguransky S., Williams L., Qureshi M., Salazar G. A., Sonnhammer E. L., Tosatto S. C., Paladin L., Raj S., Richardson L. J. Pfam: The protein families database in 2021 // Nucleic Acids Research. — 2021. — V. 49, № D1. — P. D412-D419.
388. Boratyn G. M., Schäffer A. A., Agarwala R., Altschul S. F., Lipman D. J., Madden T. L. Domain enhanced lookup time accelerated BLAST // Biology direct. — 2012. — V. 7, № 1. — P. 1-14.

389. Alvarez-Bolado G. Development of neuroendocrine neurons in the mammalian hypothalamus // Cell and tissue research. — 2019. — V. 375, № 1. — P. 23-39.
390. Clare A. J., Wicky H. E., Empson R. M., Hughes S. M. RNA-sequencing analysis reveals a regulatory role for transcription factor Fezf2 in the mature motor cortex // Frontiers in molecular neuroscience. — 2017. — V. 10. — P. 283.
391. Shimizu T., Nakazawa M., Kani S., Bae Y.-K., Shimizu T., Kageyama R., Hibi M. Zinc finger genes Fezf1 and Fezf2 control neuronal differentiation by repressing Hes5 expression in the forebrain // Development. — 2010. — V. 137, № 11. — P. 1875-1885.
392. Yang N., Dong Z., Guo S. Fezf2 regulates multilineage neuronal differentiation through activating basic helix-loop-helix and homeodomain genes in the zebrafish ventral forebrain // Journal of Neuroscience. — 2012. — V. 32, № 32. — P. 10940-10948.
393. Dennis D. J., Wilkinson G., Li S., Dixit R., Adnani L., Balakrishnan A., Han S., Kovach C., Gruenig N., Kurrasch D. M. Neurog2 and Ascl1 together regulate a postmitotic derepression circuit to govern laminar fate specification in the murine neocortex // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2017. — V. 114, № 25. — P. E4934-E4943.
394. Kiehl T.-R., Fischer S. E., Ezzat S., Asa S. L. Mice lacking the transcription factor Ikaros display behavioral alterations of an anti-depressive phenotype // Experimental neurology. — 2008. — V. 211, № 1. — P. 107-114.
395. Hernandez D., Egan S. E., Yulug I. G., Fisher E. M. Mapping the gene that encodes phosphatidylinositol-specific phospholipase C-gamma 2 in the human and the mouse // Genomics. — 1994. — Sep 15. — V. 23, № 2. — P. 504-7.
396. Koss H., Bunney T. D., Behjati S., Katan M. Dysfunction of phospholipase Cgamma in immune disorders and cancer // Trends Biochem Sci. — 2014. — Dec. — V. 39, № 12. — P. 603-11.
397. Yang Y. R., Kang D. S., Lee C., Seok H., Follo M. Y., Cocco L., Suh P. G. Primary phospholipase C and brain disorders // Adv Biol Regul. — 2016. — May. — V. 61. — P. 80-5.
398. Jang H. J., Yang Y. R., Kim J. K., Choi J. H., Seo Y. K., Lee Y. H., Lee J. E., Ryu S. H., Suh P. G. Phospholipase C-gamma1 involved in brain disorders // Adv Biol Regul. — 2013. — Jan. — V. 53, № 1. — P. 51-62.
399. Giralt A., Rodrigo T., Martin E. D., Gonzalez J. R., Mila M., Cena V., Dierssen M., Canals J. M., Alberch J. Brain-derived neurotrophic factor modulates the severity of cognitive alterations induced by mutant huntingtin: involvement of phospholipaseCgamma activity and glutamate receptor expression // Neuroscience. — 2009. — Feb 18. — V. 158, № 4. — P. 1234-50.
400. Rantamaki T., Hendolin P., Kankaanpaa A., Mijatovic J., Piepponen P., Domenici E., Chao M. V., Mannisto P. T., Castren E. Pharmacologically diverse antidepressants rapidly activate brain-derived neurotrophic factor receptor TrkB and induce phospholipase-Cgamma signaling pathways in mouse brain // Neuropsychopharmacology. — 2007. — Oct. — V. 32, № 10. — P. 2152-62.
401. Turecki G., Grof P., Cavazzoni P., Duffy A., Grof E., Ahrens B., Berghofer A., Muller-Oerlinghausen B., Dvorakova M., Libigerova E., Vojtechovsky M., Zvolsky P., Joober R., Nilsson A., Prochazka H., Licht R. W., Rasmussen N. A., Schou M., Vestergaard P., Holzinger A., Schumann C., Thau K., Rouleau G. A., Alda M. Evidence for a role of phospholipase C-gamma1 in the pathogenesis of bipolar disorder // Mol Psychiatry. — 1998. — Nov. — V. 3, № 6. — P. 534-8.
402. Mao D., Epple H., Uthgenannt B., Novack D. V., Faccio R. PLCgamma2 regulates osteoclastogenesis via its interaction with ITAM proteins and GAB2 // J Clin Invest. — 2006. — Nov. — V. 116, № 11. — P. 2869-79.
403. Ombrello M. J., Remmers E. F., Sun G., Freeman A. F., Datta S., Torabi-Parizi P., Subramanian N., Bunney T. D., Baxendale R. W., Martins M. S., Romberg N., Komarow H., Aksentijevich I., Kim H. S., Ho J., Cruse G., Jung M. Y., Gilfillan A. M., Metcalfe D. D., Nelson C., O'Brien M., Wisch L., Stone K., Douek D. C., Gandhi C., Wanderer A. A., Lee H., Nelson S. F., Shianna K. V., Cirulli E. T., Goldstein D. B., Long E. O., Moir S., Meffre E., Holland S. M., Kastner D. L., Katan M.,

Hoffman H. M., Milner J. D. Cold urticaria, immunodeficiency, and autoimmunity related to PLCG2 deletions // N Engl J Med. — 2012. — Jan 26. — V. 366, № 4. — P. 330-8.
404. Zhou Q., Lee G. S., Brady J., Datta S., Katan M., Sheikh A., Martins M. S., Bunney T. D., Santich B. H., Moir S., Kuhns D. B., Long Priel D. A., Ombrello A., Stone D., Ombrello M. J., Khan J., Milner J. D., Kastner D. L., Aksentijevich I. A hypermorphic missense mutation in PLCG2, encoding phospholipase Cgamma2, causes a dominantly inherited autoinflammatory disease with immunodeficiency // Am J Hum Genet. — 2012. — Oct 5. — V. 91, № 4. — P. 713-20.
405. Magno L., Lessard C. B., Martins M., Lang V., Cruz P., Asi Y., Katan M., Bilsland J., Lashley T., Chakrabarty P., Golde T. E., Whiting P. J. Alzheimer's disease phospholipase C-gamma-2 (PLCG2) protective variant is a functional hypermorph // Alzheimers Res Ther. — 2019. — Feb 2. — V. 11, № 1. — P. 16.
406. Lazar M. A. Thyroid hormone receptors: multiple forms, multiple possibilities // Endocrine reviews. — 1993. — V. 14, № 2. — P. 184-193.
407. Yen P. M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action // Physiological reviews. — 2001. — V. 81, № 3. — P. 1097-1142.
408. Brent G. A. Mechanisms of thyroid hormone action // The Journal of clinical investigation. — 2012. — V. 122, № 9. — P. 3035-3043.
409. Mellström B., Naranjo J. R., Santos A., Gonzalez A. M., Bernal J. Independent expression of the α and β c-erb A genes in developing rat brain // Molecular endocrinology. — 1991. — V. 5, № 9. — P. 1339-1350.
410. Bernal J. Thyroid hormone receptors in brain development and function // Nature clinical practice Endocrinology & metabolism. — 2007. — V. 3, № 3. — P. 249-259.
411. Rahman M. H., Ali M. Y. The Relationships between thyroid hormones and the brain serotonin (5-HT) system and mood: Of synergy and significance in the adult brain-A review // Faridpur Medical College Journal. — 2014. — V. 9, № 2. — P. 98-101.
412. Kirkegaard C., Faber J. The role of thyroid hormones in depression // European Journal of Endocrinology. — 1998. — V. 138. — P. 1-9.
413. Bauer M., Heinz A., Whybrow P. Thyroid hormones, serotonin and mood: of synergy and significance in the adult brain // Molecular psychiatry. — 2002. — V. 7, № 2. — P. 140-156.
414. Whybrow P. C., Prange A. J. A hypothesis of thyroid-catecholamine-receptor interaction: its relevance to affective illness // Archives of General Psychiatry. — 1981. — V. 38, № 1. — P. 106-113.
415. Bathla M., Singh M., Relan P. Prevalence of anxiety and depressive symptoms among patients with hypothyroidism // Indian journal of endocrinology and metabolism. — 2016. — V. 20, № 4. — P. 468.
416. Ittermann T., Völzke H., Baumeister S. E., Appel K., Grabe H. J. Diagnosed thyroid disorders are associated with depression and anxiety // Social psychiatry and psychiatric epidemiology. — 2015. — V. 50, № 9. — P. 1417-1425.
417. Demet M. M., Özmen B., Deveci A., Boyvada S., Adıgüzel H., Aydemir Ö. Depression and anxiety in hyperthyroidism // Archives of medical research. — 2002. — V. 33, № 6. — P. 552-556.
418. Rodrigues N. R., Theodosiou A. M., Nesbit M. A., Campbell L., Tandle A. T., Saranath D., Davies K. E. Characterization of Ngef, a novel member of the Dbl family of genes expressed predominantly in the caudate nucleus // Genomics. — 2000. — V. 65, № 1. — P. 53-61.
419. Shamah S. M., Lin M. Z., Goldberg J. L., Estrach S., Sahin M., Hu L., Bazalakova M., Neve R. L., Corfas G., Debant A. EphA receptors regulate growth cone dynamics through the novel guanine nucleotide exchange factor ephexin // Cell. — 2001. — V. 105, № 2. — P. 233-244.
420. Van Eekelen M., Runtuwene V., Masselink W., den Hertog J. Pair-wise regulation of convergence and extension cell movements by four phosphatases via RhoA // Plos one. — 2012. — V. 7, № 4. — P. e35913.

421. Schmucker D., Zipursky S. L. Signaling downstream of Eph receptors and ephrin ligands // Cell. — 2001. — V. 105, № 6. — P. 701-704.
422. Sahin M., Greer P. L., Lin M. Z., Poucher H., Eberhart J., Schmidt S., Wright T. M., Shamah S. M., O'Connell S., Cowan C. W. Eph-dependent tyrosine phosphorylation of ephexin1 modulates growth cone collapse // Neuron. — 2005. — V. 46, № 2. — P. 191-204.
423. Norris J. M., Langefeld C. D., Talbert M. E., Wing M. R., Haritunians T., Fingerlin T. E., Hanley A. J., Ziegler J. T., Taylor K. D., Haffner S. M. Genome-wide association study and follow-up analysis of adiposity traits in Hispanic Americans: the IRAS Family Study // Obesity. — 2009. — V. 17, № 10. — P. 1932-1941.
424. Knöll B., Drescher U. Src family kinases are involved in EphA receptor-mediated retinal axon guidance // Journal of Neuroscience. — 2004. — V. 24, № 28. — P. 6248-6257.
425. Sanderson D. J., Good M. A., Seeburg P. H., Sprengel R., Rawlins J. N. P., Bannerman D. M. The role of the GluR-A (GluR1) AMPA receptor subunit in learning and memory // Progress in brain research. — 2008. — V. 169. — P. 159-178.
426. Frey M. C., Sprengel R., Nevian T. Activity pattern-dependent long-term potentiation in neocortex and hippocampus of GluA1 (GluR-A) subunit-deficient mice // Journal of Neuroscience. — 2009. — V. 29, № 17. — P. 5587-5596.
427. Kessels H. W., Malinow R. Synaptic AMPA receptor plasticity and behavior // Neuron. — 2009. — V. 61, № 3. — P. 340-350.
428. Keinanen K., Wisden W., Sommer B., Werner P., Herb A., Verdoorn T. A., Sakmann B., Seeburg P. H. A family of AMPA-selective glutamate receptors // Science. — 1990. — V. 249, № 4968. — P. 556-560.
429. Sjöstedt E., Zhong W., Fagerberg L., Karlsson M., Mitsios N., Adori C., Oksvold P., Edfors F., Limiszewska A., Hikmet F. An atlas of the protein-coding genes in the human, pig, and mouse brain // Science. — 2020. — V. 367, № 6482.
430. Sanderson D. J., Hindley E., Smeaton E., Denny N., Taylor A., Barkus C., Sprengel R., Seeburg P. H., Bannerman D. M. Deletion of the GluA1 AMPA receptor subunit impairs recency-dependent object recognition memory // Learning & memory. — 2011. — V. 18, № 3. — P. 181-190.
431. Wiedholz L. M., Owens W., Horton R., Feyder M., Karlsson R., Hefner K., Sprengel R., Celikel T., Daws L., Holmes A. Mice lacking the AMPA GluR1 receptor exhibit striatal hyperdopaminergia and 'schizophrenia-related'behaviors // Molecular psychiatry. — 2008. — V. 13, № 6. — P. 631-640.
432. Maksimovic M., Vekovischeva O. Y., Aitta-aho T., Korpi E. R. Chronic treatment with mood-stabilizers attenuates abnormal hyperlocomotion of GluA1-subunit deficient mice // PLoS One. — 2014. — V. 9, № 6. — P. e100188.
433. Bannerman D. M., Deacon R. M., Brady S., Bruce A., Sprengel R., Seeburg P. H., Rawlins J. N. P. A comparison of GluR-A-deficient and wild-type mice on a test battery assessing sensorimotor, affective, and cognitive behaviors // Behavioral neuroscience. — 2004. — V. 118, № 3. — P. 643.
434. Schmitt W. B., Deacon R. M., Reisel D., Sprengel R., Seeburg P. H., Rawlins J. N. P., Bannerman D. Spatial reference memory in GluR-A-deficient mice using a novel hippocampal-dependent paddling pool escape task // Hippocampus. — 2004. — V. 14, № 2. — P. 216-223.
435. Zhang J., Abdullah J. M. The role of GluA1 in central nervous system disorders // Reviews in the Neurosciences. — 2013. — V. 24, № 5. — P. 499-505.
436. Alt A., Nisenbaum E. S., Bleakman D., Witkin J. M. A role for AMPA receptors in mood disorders // Biochemical pharmacology. — 2006. — V. 71, № 9. — P. 1273-1288.
437. Freudenberg F., Celikel T., Reif A. The role of α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptors in depression: central mediators of pathophysiology and antidepressant activity? // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. — 2015. — V. 52. — P. 193-206.

438. Bartanusz V., Aubry J.-M., Pagliusi S., Jezova D., Baffi J., Kiss J. Z. Stress-induced changes in messenger RNA levels of N-methyl-D-aspartate and AMPA receptor subunits in selected regions of the rat hippocampus and hypothalamus // Neuroscience. — 1995. — V. 66, № 2. — P. 247-252.
439. Rosa M. L. N. M., Guimarães F. S., Pearson R. C. A., Del Bel E. A. Effects of single or repeated restraint stress on GluR1 and GluR2 flip and flop mRNA expression in the hippocampal formation // Brain research bulletin. — 2002. — V. 59, № 2. — P. 117-124.
440. Yuen E. Y., Liu W., Karatsoreos I. N., Feng J., McEwen B. S., Yan Z. Acute stress enhances glutamatergic transmission in prefrontal cortex and facilitates working memory // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2009. — V. 106, № 33. — P. 14075-14079.
441. Yuen E. Y., Liu W., Karatsoreos I. N., Ren Y., Feng J., McEwen B. S., Yan Z. Mechanisms for acute stress-induced enhancement of glutamatergic transmission and working memory // Molecular psychiatry. — 2011. — V. 16, № 2. — P. 156-170.
442. Moench K. M., Breach M. R., Wellman C. L. Prior stress followed by a novel stress challenge results in sex-specific deficits in behavioral flexibility and changes in gene expression in rat medial prefrontal cortex // Hormones and behavior. — 2020. — V. 117. — P. 104615.
443. Li N., Liu R.-J., Dwyer J. M., Banasr M., Lee B., Son H., Li X.-Y., Aghajanian G., Duman R. S. Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure // Biological psychiatry. — 2011. — V. 69, № 8. — P. 754-761.
444. Gao L., Liu X., Yu L., Wu J., Xu M., Liu Y. Folic acid exerts antidepressant effects by upregulating brain-derived neurotrophic factor and glutamate receptor 1 expression in brain // Neuroreport. — 2017. — V. 28, № 16. — P. 1078-1084.
445. Schwendt M., Ježová D. Gene expression of two glutamate receptor subunits in response to repeated stress exposure in rat hippocampus // Cellular and Molecular Neurobiology. — 2000. — V. 20, № 3. — P. 319-329.
446. Qin Y., Karst H., Joels M. Chronic unpredictable stress alters gene expression in rat single dentate granule cells // Journal of neurochemistry. — 2004. — V. 89, № 2. — P. 364-374.
447. Toth E., Gersner R., Wilf-Yarkoni A., Raizel H., Dar D. E., Richter-Levin G., Levit O., Zangen A. Age-dependent effects of chronic stress on brain plasticity and depressive behavior // Journal of neurochemistry. — 2008. — V. 107, № 2. — P. 522-532.
448. Yuen E. Y., Wei J., Liu W., Zhong P., Li X., Yan Z. Repeated stress causes cognitive impairment by suppressing glutamate receptor expression and function in prefrontal cortex // Neuron. — 2012. — V. 73, № 5. — P. 962-977.
449. Duric V., Banasr M., Stockmeier C. A., Simen A. A., Newton S. S., Overholser J. C., Jurjus G. J., Dieter L., Duman R. S. Altered expression of synapse and glutamate related genes in post-mortem hippocampus of depressed subjects // International Journal of Neuropsychopharmacology. — 2013. — V. 16, № 1. — P. 69-82.
450. Kallarackal A. J., Kvarta M. D., Cammarata E., Jaberi L., Cai X., Bailey A. M., Thompson S. M. Chronic stress induces a selective decrease in AMPA receptor-mediated synaptic excitation at hippocampal temporoammonic-CA1 synapses // Journal of Neuroscience. — 2013. — V. 33, № 40. — P. 15669-15674.
451. Li N., Lee B., Liu R.-J., Banasr M., Dwyer J. M., Iwata M., Li X.-Y., Aghajanian G., Duman R. S. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists // Science. — 2010. — V. 329, № 5994. — P. 959-964.
452. Tan C.-H., He X., Yang J., Ong W.-Y. Changes in AMPA subunit expression in the mouse brain after chronic treatment with the antidepressant maprotiline: a link between noradrenergic and glutamatergic function? // Experimental brain research. — 2006. — V. 170, № 4. — P. 448-456.
453. Martínez-Turrillas R., Del Río J., Frechilla D. Sequential changes in BDNF mRNA expression and synaptic levels of AMPA receptor subunits in rat hippocampus after chronic antidepressant treatment // Neuropharmacology. — 2005. — V. 49, № 8. — P. 1178-1188.

454. Martinez-Turrillas R., Frechilla D., Del Río J. Chronic antidepressant treatment increases the membrane expression of AMPA receptors in rat hippocampus // Neuropharmacology. — 2002. — V. 43, № 8. — P. 1230-1237.
455. Barbon A., Caracciolo L., Orlandi C., Musazzi L., Mallei A., La Via L., Bonini D., Mora C., Tardito D., Gennarelli M. Chronic antidepressant treatments induce a time-dependent up-regulation of AMPA receptor subunit protein levels // Neurochemistry international. — 2011. — V. 59, № 6. — P. 896-905.
456. Zanin-Zhorov A., Lin J., Scher J., Kumari S., Blair D., Hippen K. L., Blazar B. R., Abramson S. B., Lafaille J. J., Dustin M. L. Scaffold protein Disc large homolog 1 is required for T-cell receptor-induced activation of regulatory T-cell function // Proc Natl Acad Sci U S A. — 2012. — Jan 31. — V. 109, № 5. — P. 1625-30.
457. Liu W., Chen E., Zhao X. W., Wan Z. P., Gao Y. R., Davey A., Huang E., Zhang L., Crocetti J., Sandoval G., Joyce M. G., Miceli C., Lukszo J., Aravind L., Swat W., Brzostowski J., Pierce S. K. The scaffolding protein synapse-associated protein 97 is required for enhanced signaling through isotype-switched IgG memory B cell receptors // Sci Signal. — 2012. — Jul 31. — V. 5, № 235. — P. ra54.
458. Muller B. M., Kistner U., Veh R. W., Cases-Langhoff C., Becker B., Gundelfinger E. D., Garner C. C. Molecular characterization and spatial distribution of SAP97, a novel presynaptic protein homologous to SAP90 and the Drosophila discs-large tumor suppressor protein // J Neurosci. — 1995. — Mar. — V. 15, № 3 Pt 2. — P. 2354-66.
459. Funke L., Dakoji S., Bredt D. S. Membrane-associated guanylate kinases regulate adhesion and plasticity at cell junctions // Annu Rev Biochem. — 2005. — V. 74. — P. 219-45.
460. Freudenberg F. Quantitative analysis of Gria1, Gria2, Dlg1 and Dlg4 expression levels in hippocampus following forced swim stress in mice // Sci Rep. — 2019. — Oct 1. — V. 9, № 1. — P. 14060.
461. Kim E., Sheng M. PDZ domain proteins of synapses // Nat Rev Neurosci. — 2004. — Oct. — V. 5, № 10. — P. 771-81.
462. Nakagawa T., Futai K., Lashuel H. A., Lo I., Okamoto K., Walz T., Hayashi Y., Sheng M. Quaternary structure, protein dynamics, and synaptic function of SAP97 controlled by L27 domain interactions // Neuron. — 2004. — Oct 28. — V. 44, № 3. — P. 453-67.
463. Berman R. M., Cappiello A., Anand A., Oren D. A., Heninger G. R., Charney D. S., Krystal J. H. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients // Biol Psychiatry. — 2000. — Feb 15. — V. 47, № 4. — P. 351-4.
464. Gould T. D., O'Donnell K. C., Dow E. R., Du J., Chen G., Manji H. K. Involvement of AMPA receptors in the antidepressant-like effects of lithium in the mouse tail suspension test and forced swim test // Neuropharmacology. — 2008. — Mar. — V. 54, № 3. — P. 577-87.
465. Berx G., Becker K. F., Höfler H., Van Roy F. Mutations of the human E-cadherin (CDH1) gene // Human mutation. — 1998. — V. 12, № 4. — P. 226-237.
466. Shapiro L., Weis W. I. Structure and biochemistry of cadherins and catenins // Cold Spring Harbor perspectives in biology. — 2009. — V. 1, № 3. — P. a003053.
467. Perez-Moreno M., Fuchs E. Catenins: keeping cells from getting their signals crossed // Developmental cell. — 2006. — V. 11, № 5. — P. 601-612.
468. Tian X., Liu Z., Niu B., Zhang J., Tan T. K., Lee S. R., Zhao Y., Harris D. C., Zheng G. E-cadherin/β-catenin complex and the epithelial barrier // Journal of Biomedicine and Biotechnology. — 2011. — V. 2011.
469. Teo C. H., Soga T., Parhar I. S. Brain beta-catenin signalling during stress and depression // Neurosignals. — 2018. — V. 26, № 1. — P. 31-42.
470. Wang J., Chen Y., Gu D., Zhang G., Chen J., Zhao J., Wu P. Ketamine-induced bladder fibrosis involves epithelial-to-mesenchymal transition mediated by transforming growth factor-β1 // American Journal of Physiology-Renal Physiology. — 2017. — V. 313, № 4. — P. F961-F972.

471. Chang H.-Y., Chen S.-L., Shen M.-R., Kung M.-L., Chuang L.-M., Chen Y.-W. Selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine, impairs E-cadherin-mediated cell adhesion and alters calcium homeostasis in pancreatic beta cells // Scientific reports. — 2017. — V. 7, № 1. — P. 1-13.
472. Lin E.-J. D., Sun M., Choi E. Y., Magee D., Stets C. W., During M. J. Social overcrowding as a chronic stress model that increases adiposity in mice // Psychoneuroendocrinology. — 2015. — V. 51. — P. 318-330.
473. Roltsch E. A., Baynes B. B., Mayeux J. P., Whitaker A. M., Baiamonte B. A., Gilpin N. W. Predator odor stress alters corticotropin-releasing factor-1 receptor (CRF1R)-dependent behaviors in rats // Neuropharmacology. — 2014. — V. 79. — P. 83-89.
474. Fischer C. P., Franco L. A., Romero L. M. Are novel objects perceived as stressful? The effect of novelty on heart rate // Physiology & behavior. — 2016. — V. 161. — P. 7-14.
475. Lucca G., Comim C. M., Valvassori S. S., Réus G. Z., Vuolo F., Petronilho F., Dal-Pizzol F., Gavioli E. C., Quevedo J. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain // Neurochemistry international. — 2009. — V. 54, № 5-6. — P. 358-362.
476. Pucilowski O., Overstreet D. H., Rezvani A. H., Janowsky D. S. Chronic mild stress-induced anhedonia: greater effect in a genetic rat model of depression // Physiology & Behavior. — 1993. — V. 54, № 6. — P. 1215-1220.
477. Hall C. S. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity // Journal of Comparative Psychology. — 1936. — V. 22, № 3. — P. 345.
478. Golbidi S., Frisbee J. C., Laher I. Chronic stress impacts the cardiovascular system: animal models and clinical outcomes // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. — 2015. — V. 308, № 12. — P. H1476-H1498.
479. Khasar S. G., Dina O. A., Green P. G., Levine J. D. Sound stress–induced long-term enhancement of mechanical hyperalgesia in rats is maintained by sympathoadrenal catecholamines // The Journal of Pain. — 2009. — V. 10, № 10. — P. 1073-1077.
480. Dunphy-Doherty F., O'Mahony S. M., Peterson V. L., O'Sullivan O., Crispie F., Cotter P. D., Wigmore P., King M. V., Cryan J. F., Fone K. C. Post-weaning social isolation of rats leads to long-term disruption of the gut microbiota-immune-brain axis // Brain, behavior, and immunity. — 2018. — V. 68. — P. 261-273.
481. Sequeira-Cordero A., Salas-Bastos A., Fornaguera J., Brenes J. Behavioural characterisation of chronic unpredictable stress based on ethologically relevant paradigms in rats // Scientific reports. — 2019. — V. 9, № 1. — P. 1-21.
482. Love M. I., Anders S., Huber W. Analyzing RNA-seq data with DESeq2, 2019.

Appendix A. Statistical and methodological tables

Table A.1. Results of fitted Generalized Linear Models (GZLM) using week, group, and their interactions as predictors for comparison of CUS and control groups at weeks 1-5 [192]. The corrected Akaike Information Criterion was used to determine the model with the greatest fit between Gaussian distribution (identity link), Poisson distribution (inverse and log link), and inverse Gaussian distribution (inverse and log link) for the novel tank test (NTT), Light-Dark test (LDT), shoaling test (ST) and zebrafish tail immobilization test (ZTI) and neurochemical parameters (see also Table 7 and Fig. 8-9). 5-HIAA - 5-hydroxyindoleacetic acid, DOPAC - 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, HVA - homovanilic acid.

Predictor	*b*	95% CI	*t*(170)	*p*
NTT Distance, cm Gauss distribution identity link				
Intercept	967.68	[809.91; 1.125.45]	12.02	< .001
Week 2	187.50	[−35.63; 410.62]	1.65	.101
Week 3	311.84	[88.72; 534.96]	2.74	.007
Week 4	313.39	[72.39; 554.39]	2.55	.012
Week 5	37.86	[−203.14; 278.85]	0.31	.759
CUS	538.17	[315.05; 761.29]	4.73	< .001
Week 2 × CUS	30.89	[−284.65; 346.43]	0.19	.848
Week 3 × CUS	-352.43	[−667.97; −36.89]	-2.19	.030
Week 4 × CUS	-339.79	[−680.61; 1.03]	-1.95	.052
Week 5 × CUS	-137.98	[−478.80; 202.84]	-0.79	.429
NTT Time spent top, s Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	3.75	[3.22; 4.98]	10.43	< .001
Week 2	-0.53	[−1.81; 0.40]	-1.18	.241
Week 3	-0.77	[−2.04; 0.07]	-1.77	.079
Week 4	-0.99	[−2.26; −0.13]	-2.26	.025
Week 5	-0.07	[−1.40; 1.54]	-0.13	.896
CUS	-0.84	[−2.10; −0.02]	-1.95	.053
Week 2 × CUS	-0.38	[−1.46; 0.96]	-0.71	.480
Week 3 × CUS	1.17	[0.07; 2.56]	2.03	.043
Week 4 × CUS	0.73	[−0.35; 2.10]	1.32	.190
Week 5 × CUS	0.19	[−1.50; 1.65]	0.28	.777
NTT Time spent top, s Gauss distribution identity link				
Intercept	265.35	[239.39; 291.32]	20.03	< .001
Week 2	-129.30	[-166.03; -92.58]	-6.90	< .001
Week 3	-69.49	[-106.22; -32.77]	-3.71	< .001
Week 4	-108.22	[-147.89; -68.55]	-5.35	< .001
Week 5	-100.75	[-140.41; -61.08]	-4.98	< .001
CUS	-69.14	[-105.87; -32.42]	-3.69	< .001
Week 2 × CUS	-23.19	[-75.12; 28.75]	-0.87	.383
Week 3 × CUS	-78.34	[-130.28; -26.40]	-2.96	.004
Week 4 × CUS	-28.01	[-84.11; 28.09]	-0.98	.329
Week 5 × CUS	-69.98	[-126.08; -13.88]	-2.45	.016
NTT Number of top entries, n Gauss distribution identity link				
Intercept	4.35	[0.63; 8.07]	2.29	.023
Week 2	9.70	[4.44; 14.96]	3.61	< .001
Week 3	9.70	[4.44; 14.96]	3.61	< .001
Week 4	11.05	[5.37; 16.73]	3.81	< .001
Week 5	3.92	[−1.77; 9.60]	1.35	.179
CUS	9.45	[4.19; 14.71]	3.52	.001
Week 2 × CUS	-13.50	[−20.94; −6.06]	-3.55	< .001
Week 3 × CUS	-12.15	[−19.59; −4.71]	-3.20	.002
Week 4 × CUS	-13.72	[−21.76; −5.68]	-3.34	.001
Week 5 × CUS	-12.58	[−20.62; −4.54]	-3.07	.003
NTT Latency to enter top, s Gauss distribution identity link				
Intercept	28.97	[−6.82; 64.76]	1.59	.114
Week 2	26.05	[−24.56; 76.67]	1.01	.315
Week 3	26.15	[−24.46; 76.77]	1.01	.313
Week 4	25.64	[−29.03; 80.31]	0.92	.359
Week 5	17.29	[−37.38; 71.96]	0.62	.536
CUS	19.34	[−31.28; 69.95]	0.75	.455
Week 2 × CUS	63.67	[−7.91; 135.25]	1.74	.083
Week 3 × CUS	46.57	[−25.01; 118.14]	1.28	.204
Week 4 × CUS	5.08	[−72.23; 82.40]	0.13	.898
Week 5 × CUS	111.87	[34.55; 189.18]	2.84	.005
LDT time spent in light, s Gauss distribution identity link				

Intercept	236.30	[198.40; 274.20]	12.22	< .001
Week 2	-41.80	[−95.40; 11.80]	-1.53	.128
Week 3	-53.75	[−107.35; −0.15]	-1.97	.051
Week 4	-77.50	[−135.40; −19.60]	-2.62	.009
Week 5	-82.23	[−140.13; −24.34]	-2.78	.006
CUS	-141.20	[−194.80; −87.60]	-5.16	< .001
Week 2 × CUS	29.10	[−46.70; 104.90]	0.75	.453
Week 3 × CUS	81.05	[5.25; 156.85]	2.10	.038
Week 4 × CUS	143.40	[61.52; 225.28]	3.43	.001
Week 5 × CUS	122.53	[40.66; 204.41]	2.93	.004
LDT number of light entries, n Gauss distribution identity link				
Intercept	6.50	[3.82; 9.18]	4.75	< .001
Week 2	0.20	[−3.59; 3.99]	0.10	.918
Week 3	4.35	[0.56; 8.14]	2.25	.026
Week 4	3.63	[−0.46; 7.73]	1.74	.084
Week 5	1.83	[−2.26; 5.93]	0.88	.382
CUS	-0.70	[−4.49; 3.09]	-0.36	.718
Week 2 × CUS	0.85	[−4.51; 6.21]	0.31	.756
Week 3 × CUS	-2.85	[−8.21; 2.51]	-1.04	.299
Week 4 × CUS	-2.17	[−7.96; 3.63]	-0.73	.464
Week 5 × CUS	0.43	[−5.36; 6.23]	0.15	.884
ST average interfish distance, cm Gauss distribution identity link				
Intercept	1.40	[1.26; 1.56]	17.90	< .001
Week 2	0.05	[−0.17; 0.27]	0.42	.672
Week 3	0.18	[−0.04; 0.42]	1.59	.113
Week 4	0.18	[−0.06; 0.44]	1.46	.146
Week 5	0.35	[0.10; 0.63]	2.66	.008
CUS	0.00	[−0.22; 0.22]	0.00	.998
Week 2 × CUS	-0.18	[−0.48; 0.13]	-1.15	.250
Week 3 × CUS	-0.21	[−0.52; 0.11]	-1.30	.194
Week 4 × CUS	-0.28	[−0.62; 0.06]	-1.61	.109
Week 5 × CUS	-0.39	[−0.75; −0.04]	-2.19	.030
ST distance to surface, cm Gauss distribution identity link				
Intercept	11.34	[9.41; 13.27]	11.51	< .001
Week 2	-4.92	[−7.65; −2.19]	-3.53	.001
Week 3	-3.06	[−5.79; −0.33]	-2.20	.029
Week 4	0.75	[−2.19; 3.70]	0.50	.617
Week 5	-3.73	[−6.68; −0.78]	-2.48	.014
CUS	-5.40	[−8.13; −2.67]	-3.87	< .001
Week 2 × CUS	11.15	[7.29; 15.01]	5.66	< .001
Week 3 × CUS	6.34	[2.48; 10.20]	3.22	.001
Week 4 × CUS	5.12	[0.95; 9.29]	2.41	.017
Week 5 × CUS	8.44	[4.27; 12.61]	3.97	< .001
ZTI time spent active, s Gauss distribution identity link				
Intercept	49.92	[26.42; 73.41]	4.16	< .001
Week 2	18.06	[−15.16; 51.28]	1.07	.288
Week 3	-18.90	[−52.12; 14.33]	-1.11	.267
Week 4	5.23	[−30.66; 41.11]	0.29	.776
Week 5	-6.18	[−42.07; 29.70]	-0.34	.736
CUS	-34.98	[−68.20; −1.76]	-2.06	.041
Week 2 × CUS	32.74	[−14.24; 79.72]	1.37	.174
Week 3 × CUS	101.50	[54.51; 148.48]	4.23	< .001
Week 4 × CUS	22.28	[−28.46; 73.03]	0.86	.391
Week 5 × CUS	45.77	[−4.97; 96.52]	1.77	.079
Dopamine pg/mg Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	5.55	[5.33; 5.83]	44.47	< .001
Week 2	-0.12	[−0.47; 0.22]	-0.71	.479
Week 3	0.02	[−0.33; 0.38]	0.12	.901
Week 4	-0.20	[−0.54; 0.13]	-1.17	.244
Week 5	-0.02	[−0.38; 0.33]	-0.14	.887
CUS	-0.04	[−0.39; 0.31]	-0.23	.816
Week 2 × CUS	0.22	[−0.27; 0.71]	0.89	.375
Week 3 × CUS	0.22	[−0.29; 0.73]	0.85	.400
Week 4 × CUS	-0.05	[−0.52; 0.41]	-0.22	.828
Week 5 × CUS	0.25	[−0.25; 0.76]	0.99	.323
DOPAC to dopamine ratio Inversed Gauss distribution inversed link				
Intercept	9.00	[5.47; 12.52]	5.00	< .001
Week 2	-2.57	[−7.19; 2.05]	-1.09	.279
Week 3	0.49	[−4.57; 5.54]	0.19	.851
Week 4	-1.40	[−6.19; 3.39]	-0.57	.569
Week 5	0.29	[−4.74; 5.32]	0.11	.909
CUS	0.85	[−4.26; 5.95]	0.33	.745
Week 2 × CUS	-1.46	[−8.02; 5.09]	-0.44	.663

Week 3 × CUS	4.68	[−3.06; 12.43]	1.19	.239
Week 4 × CUS	0.17	[−6.80; 7.13]	0.05	.962
Week 5 × CUS	-2.29	[−9.35; 4.76]	-0.64	.525
DOPAC, pg/mg Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	3.37	[3.02; 3.93]	15.43	< .001
Week 2	0.10	[−0.57; 0.79]	0.32	.752
Week 3	-0.06	[−0.71; 0.59]	-0.18	.856
Week 4	-0.06	[−0.71; 0.58]	-0.19	.849
Week 5	-0.14	[−0.79; 0.48]	-0.47	.639
CUS	-0.26	[−0.90; 0.33]	-0.91	.368
Week 2 × CUS	0.36	[−0.53; 1.29]	0.82	.415
Week 3 × CUS	-0.02	[−0.84; 0.81]	-0.04	.967
Week 4 × CUS	0.05	[−0.78; 0.88]	0.12	.904
5-HIAA, pg/mg Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	5.24	[4.97; 5.63]	32.47	< .001
Week 2	-0.28	[−0.73; 0.14]	-1.31	.193
Week 3	0.02	[−0.45; 0.49]	0.07	.941
Week 4	-0.05	[−0.51; 0.41]	-0.20	.842
Week 5	-0.15	[−0.61; 0.29]	-0.69	.489
CUS	-0.15	[−0.61; 0.29]	-0.69	.495
Week 2 × CUS	0.62	[0.00; 1.27]	1.96	.053
Week 3 × CUS	-0.22	[−0.84; 0.38]	-0.73	.469
Week 4 × CUS	-0.45	[−1.05; 0.14]	-1.52	.132
Week 5 × CUS	0.20	[−0.40; 0.82]	0.67	.507
5-HIAA to serotonin ratio Inversed Gauss distribution Inversed Gauss distribution				
Intercept	1.58	[1.03; 2.14]	5.58	< .001
Week 2	0.28	[−0.54; 1.10]	0.68	.501
Week 3	-0.11	[−0.89; 0.66]	-0.28	.777
Week 4	-0.30	[−1.05; 0.45]	-0.78	.436
Week 5	-0.07	[−0.85; 0.71]	-0.17	.868
CUS	-0.03	[−0.82; 0.75]	-0.09	.932
Week 2 × CUS	-0.80	[−1.89; 0.28]	-1.45	.151
Week 3 × CUS	1.46	[0.25; 2.67]	2.36	.020
Week 4 × CUS	1.06	[−0.09; 2.21]	1.81	.073
Week 5 × CUS	0.51	[−0.63; 1.65]	0.88	.384
Serotonin, pg/mg Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	5.73	[5.50; 6.04]	42.77	< .001
Week 2	-0.09	[−0.47; 0.28]	-0.48	.635
Week 3	-0.03	[−0.41; 0.35]	-0.18	.861
Week 4	-0.10	[−0.48; 0.27]	-0.53	.596
Week 5	-0.14	[−0.51; 0.23]	-0.76	.449
CUS	-0.11	[−0.49; 0.26]	-0.61	.544
Week 2 × CUS	0.10	[−0.41; 0.62]	0.40	.688
Week 3 × CUS	0.37	[−0.16; 0.92]	1.36	.178
Week 4 × CUS	-0.01	[−0.51; 0.50]	-0.03	.976
Week 5 × CUS	0.49	[−0.04; 1.04]	1.82	.072
HVA to dopamine ratio Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	37.70	[20.26; 55.14]	4.24	< .001
Week 2	6.21	[−19.45; 31.86]	0.47	.637
Week 3	19.85	[−7.87; 47.57]	1.40	.164
Week 4	-2.00	[−26.33; 22.33]	-0.16	.872
Week 5	1.31	[−23.57; 26.19]	0.10	.918
CUS	13.78	[−13.04; 40.61]	1.01	.317
Week 2 × CUS	-26.30	[−62.72; 10.13]	-1.42	.160
Week 3 × CUS	-5.22	[−46.65; 36.22]	-0.25	.806
Week 4 × CUS	6.35	[−31.83; 44.54]	0.33	.745
Week 5 × CUS	13.55	[−26.06; 53.16]	0.67	.504
HVA, pg/mg Inversed Gauss distribution Inversed Gauss distribution				
Intercept	0.15	[0.07; 0.22]	3.99	< .001
Week 2	0.05	[−0.06; 0.15]	0.81	.418
Week 3	0.08	[−0.03; 0.20]	1.41	.163
Week 4	0.03	[−0.08; 0.13]	0.47	.638
Week 5	0.03	[−0.08; 0.14]	0.56	.579
CUS	0.08	[−0.03; 0.20]	1.42	.159
Week 2 × CUS	-0.13	[−0.29; 0.03]	-1.62	.109
Week 3 × CUS	-0.10	[−0.27; 0.07]	-1.12	.267
Week 4 × CUS	0.04	[−0.13; 0.22]	0.50	.620
Week 5 × CUS	0.00	[−0.17; 0.17]	0.01	.990
Norepinephrine, pg/mg Gauss distribution log link				
Intercept	913.44	[678.49; 1.148.38]	7.62	< .001
Week 2	-163.89	[−496.16; 168.37]	-0.97	.336
Week 3	-106.53	[−438.79; 225.73]	-0.63	.531
Week 4	-197.99	[−530.25; 134.27]	-1.17	.246

Week 5	105.58	[−226.69; 437.84]	0.62	.535
CUS	-78.08	[−410.34; 254.18]	-0.46	.646
Week 2 × CUS	254.60	[−215.29; 724.49]	1.06	.291
Week 3 × CUS	463.23	[−6.67; 933.12]	1.93	.056
Week 4 × CUS	100.21	[−369.68; 570.11]	0.42	.677
Week 5 × CUS	310.81	[−159.08; 780.71]	1.30	.198

Table A.2. The results of the Tukey post-hoc test for a statistically significant predictor by ANOVA group of the generalized linear model (GZLM) comparing the effects of the CUS and the control group for 5 weeks [192]. NTT - the novel tank test, LDT - the light-dark test, ST - shoaling test, and ZTI - the zebrafish tail immobilization test (see also Table 7 and Fig. 8-9), 5-HIAA - 5-hydroxyindoleacetic acid.

Parameters	ΔM	**95% CI**	z	p
NTT Distance, cm	-378.31	[−484; 54; −272; 08]	-6.98	< .001
NTT Immobility, s	0.50	[0;15; 0;85]	2.80	.005
NTT Time spent top, s	109.05	[91;56; 126;53]	12.22	< .001
NTT Latency to enter top, s	-64.77	[−88; 87; −40; 68]	-5.27	< .001
LDT Time spent in light, s	65.98	[40; 46; 91; 50]	5.07	< .001
ST Average interfish distance, cm	0.21	[0; 10; 0; 32]	3.87	< .001
5-HIAA/serotonin ratio	-0.41	[−0; 78; −0; 04]	-2.18	.029

Table A.3. Results of the Tukey post-hoc test for ANOVA statistically significant predictor week in the generalized linear model (GZLM) comparing the effects of the CUS and the control group for 5 weeks [192]. NTT - the novel tank test, LDT - the light-dark test, ST - shoaling test, and ZTI - the zebrafish tail immobilization test (see also Table 7 and Fig. 8-9), DOPAC - 3,4-hydroxyphenylacetic acid.

Comparisons (week- week)	ΔM	**95% CI**	$z, ratio$	p
NTT Distance, cm				
1 - 2	-202.94	[−360.71; −45.17]	-2.52	.012
1 - 3	-135.63	[−293.40; 22.14]	-1.68	.092
1 - 4	-143.49	[−313.90; 26.92]	-1.65	.099
1 - 5	31.14	[−139.28; 201.55]	0.36	.720
2 - 3	67.31	[−90.46; 225.08]	0.84	.403
2 - 4	59.44	[−110.97; 229.86]	0.68	.494
2 - 5	234.07	[63.66; 404.49]	2.69	.007
3 - 4	-7.87	[−178.28; 162.55]	-0.09	.928
3 - 5	166.76	[−3.65; 337.17]	1.92	.055
4 - 5	174.63	[−7.55; 356.81]	1.88	.060
NTT Immobility, s				
1 – 2	0.72	[0.20; 1.24]	2.71	.007
1 – 3	0.19	[−0.38; 0.75]	0.65	.517
1 – 4	0.63	[0.09; 1.17]	2.27	.023
1 – 5	-0.02	[−0.67; 0.62]	-0.07	.945
2 – 3	-0.54	[−1.02; −0.05]	-2.18	.029
2 – 4	-0.09	[−0.55; 0.37]	-0.40	.688
2 – 5	-0.75	[−1.32; −0.17]	-2.54	.011
3 – 4	0.44	[−0.06; 0.95]	1.72	.085
3 – 5	-0.21	[−0.82; 0.40]	-0.67	.503
4 – 5	-0.65	[−1.24; −0.06]	-2.15	.031
NTT Time spent top, s				
1 – 2	140.90	[114.93; 166.87]	10.63	< .001
1 – 3	108.66	[82.69; 134.63]	8.20	< .001
1 – 4	122.22	[94.17; 150.27]	8.54	< .001
1 – 5	135.74	[107.69; 163.79]	9.48	< .001
2 – 3	-32.23	[−58.20; −6.27]	-2.43	.015
2 – 4	-18.67	[−46.72; 9.38]	-1.30	.192
2 – 5	-5.16	[−33.21; 22.89]	-0.36	.718
3 – 4	13.56	[−14.49; 41.61]	0.95	.343
3 – 5	27.08	[−0.97; 55.12]	1.89	.059
4 – 5	13.51	[−16.47; 43.50]	0.88	.377
NTT Number of top entries, n				
1 – 2	-2.95	[−6.67; 0.77]	-1.55	.120
1 – 3	-3.63	[−7.35; 0.10]	-1.91	.056
1 – 4	-4.19	[−8.21; −0.17]	-2.04	.041
1 – 5	2.37	[−1.64; 6.39]	1.16	.247
2 – 3	-0.68	[−4.40; 3.05]	-0.36	.722
2 – 4	-1.24	[−5.26; 2.78]	-0.61	.545
2 – 5	5.32	[1.31; 9.34]	2.60	.009

3 – 4	-0.57	[−4.59; 3.45]	-0.28	.782
3 – 5	6.00	[1.98; 10.02]	2.93	.003
4 – 5	6.57	[2.27; 10.86]	3.00	.003
NTT Latency to enter top, s				
1 - 2	-57.89	[−93.68; −22.10]	-3.17	.002
1 - 3	-49.43	[−85.22; −13.65]	-2.71	.007
1 - 4	-28.18	[−66.84; 10.48]	-1.43	.153
1 - 5	-73.22	[−111.88; −34.56]	-3.71	< .001
2 - 3	8.45	[−27.34; 44.24]	0.46	.644
2 - 4	29.71	[−8.95; 68.37]	1.51	.132
2 - 5	-15.33	[−53.99; 23.32]	-0.78	.437
3 - 4	21.26	[−17.40; 59.91]	1.08	.281
3 - 5	-23.79	[−62.44; 14.87]	-1.21	.228
4 - 5	-45.04	[−86.37; −3.72]	-2.14	.033
ST distance to surface, cm				
1 - 2	-0.66	[−2.59; 1.27]	-0.67	.504
1 - 3	-0.11	[−2.04; 1.82]	-0.11	.909
1 - 4	-3.31	[−5.40; −1.23]	-3.11	.002
1 - 5	-0.49	[−2.58; 1.59]	-0.46	.645
2 - 3	0.55	[−1.38; 2.48]	0.56	.579
2 - 4	-2.65	[−4.74; −0.57]	-2.50	.013
2 - 5	0.17	[−1.92; 2.25]	0.16	.874
3 - 4	-3.20	[−5.29; −1.12]	-3.01	.003
3 - 5	-0.38	[−2.46; 1.71]	-0.36	.722
4 - 5	2.82	[0.59; 5.05]	2.48	.013
ZTI Time spent active, s				
1 - 2	-34.43	[−57.92; −10.94]	-2.87	.004
1 - 3	-31.85	[−55.34; −8.36]	-2.66	.008
1 - 4	-16.37	[−41.74; 9.00]	-1.26	.206
1 - 5	-16.70	[−42.08; 8.67]	-1.29	.197
2 - 3	2.58	[−20.92; 26.07]	0.21	.830
2 - 4	18.06	[−7.31; 43.43]	1.39	.163
2 - 5	17.72	[−7.65; 43.10]	1.37	.171
3 - 4	15.48	[−9.89; 40.86]	1.20	.232
3 - 5	15.15	[−10.22; 40.52]	1.17	.242
4 - 5	-0.33	[−27.46; 26.79]	-0.02	.981
Dopamine, pg/mg				
1 - 2	0.01	[−0.23; 0.25]	0.10	.923
1 - 3	-0.13	[−0.38; 0.12]	-1.02	.309
1 - 4	0.22	[−0.01; 0.45]	1.90	.057
1 - 5	-0.10	[−0.35; 0.15]	-0.80	.426
2 - 3	-0.14	[−0.39; 0.11]	-1.11	.266
2 - 4	0.21	[−0.02; 0.44]	1.80	.071
2 - 5	-0.11	[−0.36; 0.14]	-0.89	.372
3 - 4	0.35	[0.11; 0.59]	2.90	.004
3 - 5	0.03	[−0.23; 0.29]	0.22	.825
4 - 5	-0.32	[−0.56; −0.09]	-2.68	.007
DOPAC to Dopamine ratio				
1 - 2	3.30	[0.02; 6.58]	1.97	.049
1 - 3	-2.83	[−6.70; 1.04]	-1.43	.152
1 - 4	1.31	[−2.17; 4.79]	0.74	.460
1 - 5	0.85	[−2.67; 4.38]	0.47	.635
2 - 3	-6.13	[−9.69; −2.56]	-3.37	.001
2 - 4	-1.99	[−5.12; 1.15]	-1.24	.214
2 - 5	-2.45	[−5.63; 0.74]	-1.50	.133
3 - 4	4.14	[0.39; 7.89]	2.16	.031
3 - 5	3.68	[−0.11; 7.48]	1.90	.057
4 - 5	-0.46	[−3.85; 2.94]	-0.26	.792
Norepinephrine, pg/mg				
1 - 2	36.59	[−198.35; 271.54]	0.31	.760
1 - 3	-125.08	[−360.03; 109.86]	-1.04	.297
1 - 4	147.88	[−87.06; 382.83]	1.23	.217
1 - 5	-260.98	[−495.93; −26.04]	-2.18	.029
2 - 3	-161.68	[−396.62; 73.27]	-1.35	.177
2 - 4	111.29	[−123.65; 346.24]	0.93	.353
2 - 5	-297.58	[−532.52; −62.63]	-2.48	.013
3 - 4	272.97	[38.02; 507.91]	2.28	.023
3 - 5	-135.90	[−370.85; 99.04]	-1.13	.257
4 - 5	-408.87	[−643.81; −173.92]	-3.41	.001

Table A.4. Results of the Tukey post-hoc test for a statistically significant ANOVA predictor of interaction group x week of the generalized linear model (GZLM) comparing the effects of the CUS and

the control group for 5 weeks [192]. NTT - the novel tank test, LDT - the light-dark test, ST - shoaling test, and ZTI - the zebrafish tail immobilization test (see also Table 7 and Fig. 8-9), 5-HIAA - 5-hydroxyindoleacetic acid.

Comparison (group - group. intraweek)	*ΔM*	95% CI	*z*	*p*
NTT Immobility, s				
1.Control - 1.CUS	0.84	[0.00; 1.68]	1.95	.051
2.Control - 2.CUS	1.22	[0.60; 1.83]	3.88	< .001
3.Control - 3.CUS	-0.33	[−1.07; 0.42]	-0.86	.388
4.Control - 4.CUS	0.11	[−0.57; 0.79]	0.32	.751
5.Control - 5.CUS	0.65	[−0.32; 1.62]	1.32	.186
NTT Time spent top, s				
1.Control - 1.CUS	69.14	[32.42; 105.87]	3.69	< .001
2.Control - 2.CUS	92.33	[55.60; 129.05]	4.93	< .001
3.Control - 3.CUS	147.48	[110.75; 184.21]	7.87	< .001
4.Control - 4.CUS	97.15	[54.74; 139.56]	4.49	< .001
5.Control - 5.CUS	139.13	[96.72; 181.53]	6.43	< .001
NTT Number of top entries, n				
1.Control - 1.CUS	-9.45	[−14.71; −4.19]	-3.52	< .001
2.Control - 2.CUS	4.05	[−1.21; 9.31]	1.51	.131
3.Control - 3.CUS	2.70	[−2.56; 7.96]	1.01	.315
4.Control - 4.CUS	4.27	[−1.81; 10.34]	1.38	.169
5.Control - 5.CUS	3.13	[−2.94; 9.21]	1.01	.312
NTT Latency to enter top, s				
1.Control - 1.CUS	-19.34	[−69.95; 31.28]	-0.75	.454
2.Control - 2.CUS	-83.01	[−133.62; −32.39]	-3.21	.001
3.Control - 3.CUS	-65.90	[−116.52; −15.29]	-2.55	.011
4.Control - 4.CUS	-24.42	[−82.86; 34.03]	-0.82	.413
5.Control - 5.CUS	-131.20	[−189.65; −72.76]	-4.40	< .001
LDT Time spent in light, s				
1.Control - 1.CUS	141.20	[87.60; 194.80]	5.16	< .001
2.Control - 2.CUS	112.10	[58.50; 165.70]	4.10	< .001
3.Control - 3.CUS	60.15	[6.55; 113.75]	2.20	.028
4.Control - 4.CUS	-2.20	[−64.09; 59.69]	-0.07	.944
5.Control - 5.CUS	18.67	[−43.23; 80.56]	0.59	.554
ST distance to surface, cm				
1.Control - 1.CUS	5.40	[2.67; 8.13]	3.87	< .001
2.Control - 2.CUS	-5.76	[−8.49; −3.03]	-4.13	< .001
3.Control - 3.CUS	-0.95	[−3.68; 1.78]	-0.68	.497
4.Control - 4.CUS	0.28	[−2.87; 3.43]	0.17	.863
5.Control - 5.CUS	-3.04	[−6.19; 0.11]	-1.89	.059
ZTI. Time spent active, s				
1.Control - 1.CUS	34.98	[1.76; 68.20]	2.06	.039
2.Control - 2.CUS	2.24	[−30.98; 35.46]	0.13	.895
3.Control - 3.CUS	-66.52	[−99.74; −33.30]	-3.92	< .001
4.Control - 4.CUS	12.69	[−25.67; 51.05]	0.65	.517
5.Control - 5.CUS	-10.80	[−49.16; 27.56]	-0.55	.581
5-HIAA, pg/mg				
1.Control - 1.CUS	0.15	[−0.28; 0.58]	0.69	.493
2.Control - 2.CUS	-0.47	[−0.91; −0.02]	-2.07	.038
3.Control - 3.CUS	0.37	[−0.04; 0.79]	1.76	.078
4.Control - 4.CUS	0.60	[0.22; 0.99]	3.05	.002
5.Control - 5.CUS	-0.05	[−0.47; 0.37]	-0.25	.803
5-HIAA to serotonin ratio				
1.Control - 1.CUS	0.03	[−0.75; 0.82]	0.09	.932
2.Control - 2.CUS	0.84	[0.08; 1.59]	2.18	.029
3.Control - 3.CUS	-1.43	[−2.35; −0.50]	-3.03	.002
4.Control - 4.CUS	-1.03	[−1.87; −0.19]	-2.40	.016
5.Control - 5.CUS	-0.47	[−1.30; 0.35]	-1.12	.261

Table A.5. Results of fitted Generalized Linear Models (GZLM) using the group as a predictor for comparing CUS, fluoxetine, and control groups at week 5 [192]. The corrected Akaike Information Criterion was used to determine the model with the greatest fit between Gaussian distribution (identity link), Poisson distribution (inverse and log link), and inverse Gaussian distribution (with inversed and log link) for the novel tank test (NTT), light-dark test (LDT), shoaling test (ST) and zebrafish tail

immobilization test (ZTI) and neurochemical endpoints (see also Table 8 and Fig. 8-9). 5-HIAA - 5-hydroxyindoleacetic acid, DOPAC - 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, HVA - homovanilic acid.

Predictor	*b*	95% CI	*t*(42)	*p*
ZTI Activity, s Gauss distribution identity link				
Intercept	43.73	[18.90; 68.56]	3.45	.001
Fluxetine	2.24	[−32.88; 37.36]	0.13	.901
Stress	10.80	[−24.32; 45.92]	0.60	.550
NTT Distance, cm Gauss distribution identity link				
Intercept	1.005.54	[835.31; 1.175.77]	11.58	< .001
Fluoxetine	28.33	[-212.41; 269.06]	0.23	.819
Stress	400.19	[159.45; 640.93]	3.26	.002
ST Average interfish distance, cm Gamma disribution log link				
Intercept	1.75	[1.58; 1.94]	19.18	< .001
Fluoxetine	-0.09	[−0.34; 0.17]	-0.67	.508
Stress	-0.39	[−0.64; −0.14]	-3.01	.004
NTT Immobility, s Gauss distribution log link				
Intercept	3.68	[3.20; 4.64]	11.72	< .001
Fluoxetine	-0.53	[−1.55; 0.27]	-1.33	.192
Stress	-0.65	[−1.67; 0.10]	-1.69	.099
NTT Time spent top, s Gauss distribution identity link				
Intercept	164.61	[131.03; 198.19]	9.61	< .001
Fluoxetine	-41.10	[−88.59; 6.39]	-1.70	.097
Stress	-139.13	[−186.61; −91.64]	-5.74	< .001
NTT Number of top entries, n Gauss distribution identity link				
Intercept	8.27	[5.10; 11.43]	5.12	< .001
Fluoxetine	0.27	[−4.21; 4.74]	0.12	.908
Stress	-3.13	[−7.61; 1.34]	-1.37	.178
NTT Latency to enter top, s Gauss distribution identity link				
Intercept	46.26	[1.49; 91.03]	2.03	.049
Fluoxetine	31.44	[−31.88; 94.75]	0.97	.336
Stress	131.20	[67.89; 194.52]	4.06	< .001
LDT Time spent in light, s Gauss distribution identity link				
Intercept	154.07	[113.70; 194.43]	7.48	< .001
Fluoxetine	-8.07	[−65.15; 49.02]	-0.28	.783
Stress	-18.67	[−75.75; 38.42]	-0.64	.525
LDT Number of light entries, n Gauss distribution identity link				
Intercept	8.33	[5.51; 11.16]	5.78	< .001
Fluoxetine	-1.40	[−5.40; 2.60]	-0.69	.496
Stress	-0.27	[−4.27; 3.73]	-0.13	.897
ST Distance to surface, cm Gamma distribution inverse link				
Intercept	2.03	[1.78; 2.30]	15.23	< .001
Fluoxetine	0.10	[−0.27; 0.47]	0.51	.613
Stress	0.34	[−0.03; 0.71]	1.79	.080
Dopamine. pg/mg Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	5.52	[5.24; 5.91]	33.49	< .001
Fluoxetine	0.06	[-0.42; 0.55]	0.25	.803
Stress	0.21	[-0.28; 0.73]	0.86	.399
DOPAC to Dopamine ratio Gamma distribution inverse link				
Intercept	9.29	[6.37; 12.99]	5.52	< .001
Fluoxetine	-0.81	[-5.39; 3.68]	-0.35	.726
Stress	-1.45	[-5.92; 2.85]	-0.66	.517
DOPAC, pg/mg Gamma distribution log link				
Intercept	3.23	[2.87; 3.65]	16.32	< .001
Fluoxetine	0.20	[-0.36; 0.75]	0.70	.489
Stress	0.37	[-0.18; 0.92]	1.32	.198
5-HIAA. pg/mg Gamma distribution log link				
Intercept	5.09	[4.78; 5.44]	30.38	< .001
Fluoxetine	-0.84	[-1.30; -0.37]	-3.52	.002
Stress	0.05	[-0.41; 0.52]	0.23	.823
5-HIAA to serotonin ratio Gauss distribution log link				
Intercept	-0.42	[-0.82; 0.26]	-1.66	.108
Fluoxetine	-0.89	[-1.62; -0.34]	-2.98	.006
Stress	-0.27	[-1.03; 0.41]	-0.82	.422
Serotonin, pg/mg Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	5.59	[5.34; 5.93]	37.89	< .001
Fluoxetine	0.03	[-0.40; 0.46]	0.14	.886
Stress	0.38	[-0.08; 0.87]	1.63	.114
HVA to Dopamine ratio Inversed Gauss distribution inverse link				
Intercept	39.01	[21.75; 56.27]	4.43	< .001
Fluoxetine	8.82	[-16.94; 34.57]	0.67	.508

Stress	27.33	[-1.03; 55.70]	1.89	.070
HVA, pg/mg inverted Gauss distribution log link				
Intercept	1.73	[1.43; 2.18]	9.51	< .001
Fluoxetine	-0.09	[-0.62; 0.43]	-0.36	.724
Stress	-0.39	[-0.90; 0.07]	-1.66	.109
Norepinephrine, pg/mg Inversed Gauss distribution log link				
Intercept	6.93	[6.66; 7.29]	44.75	< .001
Fluoxetine	-0.01	[-0.45; 0.44]	-0.03	.980
Stress	0.21	[-0.26; 0.69]	0.89	.381

Table A.6. Statistical analysis results for all differentially expressed genes in three analyzes performed using Gamma-Poisson distribution with the determination of factor size, variance, and negative binomial generalized linear models, and Wald test using DESeq function *[192]*. The P-value and the false discovery rate were set to 0.05. The genes in the table are sorted by the level of the adjusted p-value.

Ensembl	Gene name	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	Stat	pvalue	padj
CUS vs. control							
ENSDARG00000093998	si:ch73-7i4.2	164.8442	5.686818	0.620534	9.164391	4.98E-20	1.21E-15
ENSDARG00000102639	si:dkey-29d5.2	41.03763	6.214117	0.924045	6.724906	1.76E-11	2.14E-07
ENSDARG00000079402	tapbp.1	144.5193	-1.78864	0.284994	-6.27605	3.47E-10	2.82E-06
ENSDARG00000094554	si:ch73-7i4.1	37.6995	4.12461	0.750041	5.499177	3.82E-08	0.000232
ENSDARG00000076586	csf2rb	50.70728	-1.85704	0.341433	-5.43895	5.36E-08	0.000248
ENSDARG00000090890	cmklr1	55.55607	-1.7606	0.325129	-5.41508	6.13E-08	0.000248
ENSDARG00000100302	si:dkey-237g15.2	108.2872	-3.08287	0.601631	-5.12419	2.99E-07	0.000891
ENSDARG00000102835	CABZ01021435.1	26.96331	-1.9449	0.380925	-5.10574	3.3E-07	0.000891
ENSDARG00000079034	zpax4	15.31746	2.711004	0.529375	5.121144	3.04E-07	0.000891
ENSDARG00000090637	myh6	13.27576	-5.20513	1.062621	-4.89839	9.66E-07	0.002138
ENSDARG00000069839	CU571382.1	29.63909	-3.33594	0.680015	-4.90569	9.31E-07	0.002138
ENSDARG00000053973	fetub	6.957216	3.670704	0.752827	4.875896	1.08E-06	0.002197
ENSDARG00000086374	isg15	261.0382	-3.83891	0.793292	-4.83921	1.3E-06	0.002263
ENSDARG00000104120	LO018260.1	67.36825	-1.21762	0.252712	-4.8182	1.45E-06	0.002263
ENSDARG00000077249	gmip	54.58877	-1.06096	0.221001	-4.80072	1.58E-06	0.002263
ENSDARG00000002988	tnnt2d	40.15867	2.050141	0.426229	4.809951	1.51E-06	0.002263
ENSDARG00000026979	krt1-c5	299.3362	7.251248	1.510097	4.801841	1.57E-06	0.002263
ENSDARG00000074136	slc47a2.2	13.28693	-4.82162	1.01405	-4.75481	1.99E-06	0.002306
ENSDARG00000014427	mxe	68.81475	-4.23896	0.891577	-4.75445	1.99E-06	0.002306
ENSDARG00000094719	CR318588.3	1227.035	-4.16004	0.869977	-4.78178	1.74E-06	0.002306
ENSDARG00000078389	ifi46	158.1358	-2.49557	0.522744	-4.77398	1.81E-06	0.002306
ENSDARG00000059294	marco	174.3955	-2.23722	0.476887	-4.6913	2.71E-06	0.002872
ENSDARG00000079997	si:zfos-223e1.2	33.87397	1.598868	0.3406	4.694269	2.68E-06	0.002872
ENSDARG00000087102	si:ch1073-164k15.3	54.19928	-4.9841	1.067979	-4.66685	3.06E-06	0.003101
ENSDARG00000055186	ccr9a	44.12408	-2.80143	0.603577	-4.64138	3.46E-06	0.003369
ENSDARG00000094386	adgrg4b	49.28134	8.419412	1.829425	4.602218	4.18E-06	0.003913
ENSDARG00000088251	lgals17	195.6001	-4.19997	0.922056	-4.55501	5.24E-06	0.004605
ENSDARG00000039490	pitpnaa	65.80556	-1.27998	0.281611	-4.54521	5.49E-06	0.004605
ENSDARG00000100732	si:dkeyp-93h6.1	24.14235	1.992828	0.437833	4.551574	5.32E-06	0.004605
ENSDARG00000029720	si:dkeyp-9d4.2	118.4261	-2.75882	0.609126	-4.52914	5.92E-06	0.004758
ENSDARG00000010946	cbsb	1229.743	-1.11274	0.24621	-4.51949	6.2E-06	0.004758
ENSDARG00000101585	tecra	76.98249	6.34775	1.405135	4.517538	6.26E-06	0.004758
ENSDARG00000010317	gpr183a	18.51935	-1.57612	0.351277	-4.48682	7.23E-06	0.005175
ENSDARG00000067990	myhz1.1	64.67868	2.700507	0.601157	4.492184	7.05E-06	0.005175

ENSDARG00000010619	themis	14.19646	-1.81447	0.40819	-4.44516	8.78E-06	0.005937
ENSDARG00000114894	znf1026	19.7091	-1.38193	0.310862	-4.44548	8.77E-06	0.005937
ENSDARG00000090600	si:ch211-213a13.1	323.8362	-3.22941	0.728271	-4.43435	9.24E-06	0.006074
ENSDARG00000117491	CU855688.1	14.46722	1.922018	0.434193	4.426639	9.57E-06	0.00613
ENSDARG00000092233	vtg1	176.6857	2.944982	0.6664	4.419243	9.9E-06	0.006181
ENSDARG00000028731	stat4	34.94947	-1.58575	0.36035	-4.40058	1.08E-05	0.006568
ENSDARG00000007467	ifit10	18.52404	-4.94187	1.137183	-4.34571	1.39E-05	0.007947
ENSDARG00000069961	il21r.1	63.55553	-1.29313	0.297719	-4.34348	1.4E-05	0.007947
ENSDARG00000032885	si:ch211-226m7.4	33.89089	1.547943	0.356405	4.343211	1.4E-05	0.007947
ENSDARG00000093214	si:ch211-284e13.9	23.50924	-1.66773	0.388949	-4.2878	1.8E-05	0.009981
ENSDARG00000095673	si:dkey-79f11.8	30.39832	-6.4794	1.529671	-4.23581	2.28E-05	0.012115
ENSDARG00000088831	si:dkey-81j8.6	22.07982	-1.99191	0.470394	-4.23455	2.29E-05	0.012115
ENSDARG00000101014	slco1f4	4.985412	5.932084	1.402738	4.228934	2.35E-05	0.012158
ENSDARG00000105266	si:dkey-16p6.1	14.8571	-2.59149	0.615033	-4.21357	2.51E-05	0.012737
ENSDARG00000075346	tmem129	255.4415	0.505023	0.119985	4.209047	2.56E-05	0.012737
ENSDARG00000074283	inpp5d	116.6038	-1.11091	0.264307	-4.2031	2.63E-05	0.012815
ENSDARG00000095026	si:dkey-58f10.14	10.72728	-4.15513	0.994521	-4.17802	2.94E-05	0.013357
ENSDARG00000101728	si:dkeyp-80d11.12	9.188694	-3.03997	0.729765	-4.16568	3.1E-05	0.013357
ENSDARG00000071543	si:dkey-42i9.7	28.76336	-2.9514	0.706858	-4.17538	2.97E-05	0.013357
ENSDARG00000043475	si:ch211-122h15.4	113.3422	-1.67301	0.400194	-4.1805	2.91E-05	0.013357
ENSDARG00000071437	ptprc	343.6064	-1.11075	0.266757	-4.1639	3.13E-05	0.013357
ENSDARG00000062049	arhgap45b	99.35305	-0.92879	0.222678	-4.17098	3.03E-05	0.013357
ENSDARG00000055809	vtg2	19.39724	5.828072	1.392504	4.185318	2.85E-05	0.013357
ENSDARG00000056791	pde6ga	21.88924	-3.64709	0.878431	-4.15182	3.3E-05	0.01384
ENSDARG00000074052	si:ch211-281g13.5	61.93331	-3.65391	0.884609	-4.13054	3.62E-05	0.014438
ENSDARG00000099949	FP236551.1	48.90707	-1.8141	0.439081	-4.13158	3.6E-05	0.014438
ENSDARG00000032631	ltb4r	39.66947	-1.54528	0.373787	-4.13413	3.56E-05	0.014438
ENSDARG00000089463	dhx58	63.537	-3.29948	0.802559	-4.1112	3.94E-05	0.01545
ENSDARG00000041379	si:ch211-245j22.3	53.2759	-5.22288	1.276876	-4.09036	4.31E-05	0.016638
ENSDARG00000111309	AL935126.2	37.11771	7.400761	1.812357	4.083502	4.44E-05	0.016869
ENSDARG00000052288	zmp:0000000634	80.56334	-5.23374	1.284563	-4.07434	4.61E-05	0.017015
ENSDARG00000077090	si:ch211-127b11.1	16.06137	5.489022	1.34639	4.076845	4.57E-05	0.017015
ENSDARG00000004459	unc119.2	45.52201	-4.57894	1.130001	-4.05215	5.07E-05	0.017016
ENSDARG00000054418	ssuh2.2	16.49514	-2.77854	0.685146	-4.0554	5E-05	0.017016
ENSDARG00000102525	lck	17.0159	-1.98235	0.488948	-4.05431	5.03E-05	0.017016
ENSDARG00000019728	bmpr1aa	439.3845	0.627031	0.154914	4.047613	5.17E-05	0.017016
ENSDARG00000058256	draxin	1407.05	0.665238	0.164239	4.050415	5.11E-05	0.017016
ENSDARG00000094668	si:ch211-51a19.5	85.66699	2.73115	0.671709	4.065971	4.78E-05	0.017016
ENSDARG00000098315	cyp1a	20.05002	3.458075	0.854267	4.048005	5.17E-05	0.017016
ENSDARG00000052165	si:ch211-236k19.2	75.20497	5.488341	1.349347	4.067406	4.75E-05	0.017016
ENSDARG00000074656	ctss2.1	46.2542	-1.63224	0.403898	-4.04123	5.32E-05	0.017253
ENSDARG00000015176	ror1	39.3239	-1.00205	0.248429	-4.03355	5.49E-05	0.017592
ENSDARG00000075389	si:ch211-281g13.4	30.43102	-3.7568	0.933473	-4.02454	5.71E-05	0.018042
ENSDARG00000007018	ms4a17a.6	23.82854	-1.55099	0.386569	-4.0122	6.02E-05	0.018768
ENSDARG00000035798	gngt1	231.2607	-4.58871	1.148379	-3.99582	6.45E-05	0.019415
ENSDARG00000004953	mxb	68.51614	-3.91733	0.979392	-3.99976	6.34E-05	0.019415

ENSDARG00000076182	stat1b	200.0531	-3.00857	0.754124	-3.98949	6.62E-05	0.019415
ENSDARG00000038095	socs1a	60.44625	-1.72096	0.431249	-3.99065	6.59E-05	0.019415
ENSDARG00000088366	zgc:77938	193.9505	1.411368	0.35339	3.993799	6.5E-05	0.019415
ENSDARG00000075757	gig2e	11.43792	-2.30678	0.578929	-3.98457	6.76E-05	0.019586
ENSDARG00000074546	si:ch211-213a13.2	207.1771	-4.26256	1.071408	-3.97847	6.94E-05	0.019801
ENSDARG00000104045	tlr22	9.832313	-2.26098	0.569042	-3.97331	7.09E-05	0.019801
ENSDARG00000015752	zap70	32.19613	-1.42027	0.357668	-3.9709	7.16E-05	0.019801
ENSDARG00000037408	tbc1d10c	41.53559	-1.194	0.300553	-3.97268	7.11E-05	0.019801
ENSDARG00000052396	pkz	35.78193	-2.68548	0.677851	-3.96175	7.44E-05	0.020344
ENSDARG00000010252	jak3	44.89497	-1.21599	0.307974	-3.94835	7.87E-05	0.021278
ENSDARG00000040942	pnp6	782.434	0.691913	0.175374	3.945363	7.97E-05	0.021308
ENSDARG00000092259	si:dkey-211g8.5	3.67091	-5.58819	1.422267	-3.92907	8.53E-05	0.022002
ENSDARG00000075072	rpap1	258.9355	-0.62954	0.160114	-3.93184	8.43E-05	0.022002
ENSDARG00000014196	myl1	22.47509	2.590033	0.659487	3.927348	8.59E-05	0.022002
ENSDARG00000045822	tnnt2e	97.31019	2.923894	0.744396	3.927875	8.57E-05	0.022002
ENSDARG00000101071	si:dkeyp-80d11.14	9.692705	-1.69541	0.43224	-3.92239	8.77E-05	0.022226
ENSDARG00000093748	si:ch211-217k17.11	74.89433	-3.07385	0.786411	-3.90871	9.28E-05	0.023042
ENSDARG00000037358	polr3e	639.91	0.740317	0.189372	3.909328	9.26E-05	0.023042
ENSDARG00000105364	si:ch73-223f5.1	249.9613	-2.25547	0.578322	-3.90002	9.62E-05	0.023602
ENSDARG00000055730	trim35-29	26.2314	2.224615	0.570704	3.89802	9.7E-05	0.023602
ENSDARG00000076158	zgc:165583	14.77398	-1.73106	0.444598	-3.89354	9.88E-05	0.023804
ENSDARG00000098189	si:dkey-16p6.1	21.01967	-2.0213	0.520049	-3.88674	0.000102	0.024005
ENSDARG00000075504	si:dkey-40c23.2	39.2451	-1.77002	0.455386	-3.88687	0.000102	0.024005
ENSDARG00000117508	CU459056.2	31.31827	-2.81318	0.726197	-3.87385	0.000107	0.025048
ENSDARG00000104450	CR855996.2	18.79987	2.993049	0.773054	3.871719	0.000108	0.025048
ENSDARG00000092191	CR318588.1	1186.549	-3.8714	1.002492	-3.86178	0.000113	0.025602
ENSDARG00000040582	C18H3orf33	96.04662	0.956905	0.247762	3.862198	0.000112	0.025602
ENSDARG00000058774	CABZ01053221.1	6.751038	-2.13749	0.554449	-3.85516	0.000116	0.02606
ENSDARG00000077130	bcl10	19.27022	-1.44581	0.375445	-3.85093	0.000118	0.026272
ENSDARG00000025428	socs3a	319.8547	-2.28392	0.593862	-3.84587	0.00012	0.026576
ENSDARG00000061177	mov10b.1	67.60348	-2.23373	0.582393	-3.83543	0.000125	0.027056
ENSDARG00000044235	BX005421.1	11.77669	-1.87999	0.490235	-3.83487	0.000126	0.027056
ENSDARG00000022183	gsto1	561.16	0.791405	0.206245	3.837212	0.000124	0.027056
ENSDARG00000070028	tmem41aa	294.3783	-0.52064	0.136132	-3.82454	0.000131	0.027969
ENSDARG00000086391	cald1b	29.47612	1.741375	0.455576	3.822362	0.000132	0.027971
ENSDARG00000013855	slc12a3	25.84152	2.833511	0.741834	3.819602	0.000134	0.028042
ENSDARG00000100968	si:ch211-1a19.3	127.6878	-1.3544	0.355749	-3.80717	0.000141	0.029237
ENSDARG00000097559	cyp8b3	23.46184	-3.1911	0.83928	-3.80219	0.000143	0.02958
ENSDARG00000093753	BX004774.2	193.7659	-3.35418	0.884297	-3.79305	0.000149	0.030432
ENSDARG00000013655	tpd52l2b	1755.256	0.396047	0.104678	3.783498	0.000155	0.031102
ENSDARG00000099860	pkmb	19.15483	1.985092	0.52447	3.784949	0.000154	0.031102
ENSDARG00000032584	thnsl2	58.5869	1.312257	0.347211	3.77942	0.000157	0.031356
ENSDARG00000112454	FO744833.2	250.7418	-1.06081	0.281449	-3.7691	0.000164	0.032415
ENSDARG00000039243	zgc:152791	379.5849	-4.08968	1.08629	-3.76482	0.000167	0.032449
ENSDARG00000107526	smkr1	91.23716	1.22454	0.325166	3.765891	0.000166	0.032449
ENSDARG00000038288	cd151	53.99511	1.22684	0.326066	3.762555	0.000168	0.032484

ENSDARG00000101169	grap2b	69.45649	-1.34499	0.357704	-3.76006	0.00017	0.032551
ENSDARG00000068939	xaf1	80.99448	-2.10235	0.5609	-3.74818	0.000178	0.033866
ENSDARG00000043483	otx5	21.80288	-4.75563	1.270297	-3.74372	0.000181	0.033915
ENSDARG00000078731	si:dkey-85k7.12	46.23873	-3.24038	0.865637	-3.74335	0.000182	0.033915
ENSDARG00000100900	si:ch211-183d5.2	90.99566	-2.64398	0.70701	-3.73967	0.000184	0.033915
ENSDARG00000092653	si:dkey-1h24.6	10.56826	-1.46668	0.391992	-3.7416	0.000183	0.033915
ENSDARG00000002682	tbcela	1466.567	0.437677	0.117083	3.738187	0.000185	0.033915
ENSDARG00000092126	vtg5	23.70013	3.134181	0.842453	3.720305	0.000199	0.036138
ENSDARG00000101272	si:dkey-29j8.1	6.759197	-1.94503	0.523401	-3.71615	0.000202	0.036465
ENSDARG00000055159	cyp27a1.4	191.0922	0.818813	0.220705	3.709983	0.000207	0.036863
ENSDARG00000053323	zgc:112285	19.59111	1.085756	0.292827	3.707837	0.000209	0.036863
ENSDARG00000097580	BX663519.1	55.41507	2.045346	0.55146	3.708969	0.000208	0.036863
ENSDARG00000089185	si:ch73-264i18.2	2.574693	5.23719	1.41348	3.705175	0.000211	0.036985
ENSDARG00000032932	cnksr1	19.13048	-1.15229	0.311167	-3.70313	0.000213	0.037018
ENSDARG00000054610	coro1a	158.7542	-1.13353	0.306657	-3.69639	0.000219	0.037478
ENSDARG00000034063	unm_sa911	124.8442	-1.01276	0.273941	-3.697	0.000218	0.037478
ENSDARG00000090730	cfbl	23.55705	-1.94248	0.527028	-3.68572	0.000228	0.038276
ENSDARG00000089227	si:ch211-91p5.3	148.7863	-1.22865	0.333224	-3.68714	0.000227	0.038276
ENSDARG00000004954	grna	435.3453	-0.97673	0.264828	-3.68817	0.000226	0.038276
ENSDARG00000008592	mtmr8	211.84	-1.80008	0.489257	-3.67922	0.000234	0.038995
ENSDARG00000074501	tnip2	14.95865	-1.8318	0.498515	-3.67452	0.000238	0.039451
ENSDARG00000112831	znf1116	5.616213	-3.68212	1.007437	-3.65494	0.000257	0.040309
ENSDARG00000034095	si:dkey-59l11.10	4.273366	-3.45926	0.947606	-3.65053	0.000262	0.040309
ENSDARG00000113386	LO018432.1	13.70658	-3.40887	0.933373	-3.6522	0.00026	0.040309
ENSDARG00000093254	znf569l	22.27115	-1.74352	0.476823	-3.65653	0.000256	0.040309
ENSDARG00000002165	psme1	196.5018	-1.24669	0.340793	-3.6582	0.000254	0.040309
ENSDARG00000094451	cfp	291.775	-1.13416	0.309322	-3.66658	0.000246	0.040309
ENSDARG00000094854	ms4a17a.9	23.93016	-1.12734	0.308705	-3.65183	0.00026	0.040309
ENSDARG00000071558	fblim1	86.34791	0.791259	0.216127	3.661085	0.000251	0.040309
ENSDARG00000096045	si:ch73-263o4.4	21.07568	1.864121	0.510054	3.654755	0.000257	0.040309
ENSDARG00000087641	cdh26.2	27.49433	2.062629	0.563345	3.661399	0.000251	0.040309
ENSDARG00000045592	tnni2a.1	41.53237	4.136382	1.131927	3.654282	0.000258	0.040309
ENSDARG00000092159	CR788249.1	20.92327	-4.21296	1.157248	-3.6405	0.000272	0.041537
ENSDARG00000039512	ap1m3	51.50422	-1.22567	0.336763	-3.63957	0.000273	0.041537
ENSDARG00000096355	ighv1-4	116.5287	-4.07637	1.120754	-3.63717	0.000276	0.041666
ENSDARG00000008306	rdh5	41.4861	-3.83153	1.056286	-3.62736	0.000286	0.04275
ENSDARG00000100434	znf1091	28.42767	-3.03531	0.83643	-3.62889	0.000285	0.04275
ENSDARG00000052223	rcvrna	24.89004	-4.98773	1.38359	-3.60492	0.000312	0.043175
ENSDARG00000100568	si:ch211-209j12.3	5.64605	-3.59469	0.996871	-3.60598	0.000311	0.043175
ENSDARG00000002696	gnb3b	50.1038	-2.72007	0.754059	-3.60724	0.000309	0.043175
ENSDARG00000004952	rsad2	151.1438	-2.29699	0.636882	-3.60662	0.00031	0.043175
ENSDARG00000098515	si:dkey-16p6.1	54.17549	-1.69489	0.469968	-3.60639	0.00031	0.043175
ENSDARG00000100669	si:dkey-61p9.9	18.42742	-1.47296	0.408158	-3.60879	0.000308	0.043175
ENSDARG00000114991	tmem14cb	32.63878	-1.22506	0.338416	-3.61999	0.000295	0.043175
ENSDARG00000069774	flot2b	1183.238	0.363745	0.100632	3.614625	0.000301	0.043175
ENSDARG00000015482	zgc:113518	197.057	0.514276	0.142076	3.619716	0.000295	0.043175

ENSDARG00000075599	cdc25d	51.14493	0.687367	0.190245	3.613054	0.000303	0.043175
ENSDARG00000094901	abcc6b.2	17.71361	1.093126	0.301822	3.621754	0.000293	0.043175
ENSDARG00000019128	tpm4b	69.61131	1.403176	0.38894	3.607694	0.000309	0.043175
ENSDARG00000095024	si:dkeyp-68b7.10	5.475087	2.323612	0.642833	3.614645	0.000301	0.043175
ENSDARG00000044612	c1qb	41.35639	-1.48744	0.412887	-3.60255	0.000315	0.043325
ENSDARG00000101309	si:ch73-100l22.3	227.2183	0.752427	0.209258	3.595699	0.000324	0.044232
ENSDARG00000101675	zgc:123107	60.63829	-1.22681	0.341577	-3.5916	0.000329	0.044433
ENSDARG00000020610	tnnt2a	13.70478	2.009186	0.559411	3.59161	0.000329	0.044433
ENSDARG00000005713	ethe1	180.6208	0.715788	0.200044	3.578154	0.000346	0.046016
ENSDARG00000098046	FP017161.1	196.3582	0.871499	0.243536	3.578517	0.000346	0.046016
ENSDARG00000098811	LO018021.1	38.82198	0.879947	0.245746	3.580713	0.000343	0.046016
ENSDARG00000054340	sla1a	12.8555	-1.84624	0.517082	-3.5705	0.000356	0.047124
ENSDARG00000078618	inpp5kb	54.3152	-2.24734	0.629697	-3.56892	0.000358	0.047153
ENSDARG00000089930	iqce	451.2363	0.846778	0.237392	3.567004	0.000361	0.047244
ENSDARG00000044199	gnat1	271.0448	-4.22288	1.186217	-3.55995	0.000371	0.048014
ENSDARG00000103551	rnf213b	78.05034	-2.76741	0.777137	-3.56103	0.000369	0.048014
ENSDARG00000078130	CR391986.1	68.27406	0.555449	0.156091	3.558495	0.000373	0.048026
ENSDARG00000091627	si:dkey-271j15.3	18.75689	-2.85533	0.802833	-3.55657	0.000376	0.048046
ENSDARG00000100420	tpcn2	38.46233	-2.2763	0.640198	-3.55562	0.000377	0.048046
ENSDARG00000103720	zgc:162730	428.5616	-1.05731	0.297686	-3.55178	0.000383	0.048499
ENSDARG00000034160	slc4a1ap	852.5459	0.356273	0.100466	3.546204	0.000391	0.049026
ENSDARG00000038941	ppp1r1c	914.9612	0.947675	0.26721	3.546548	0.00039	0.049026
ENSDARG00000090977	ifit12	8.278224	-2.10441	0.593758	-3.54422	0.000394	0.049144
ENSDARG00000086848	atad3	94.54343	-0.72335	0.204181	-3.5427	0.000396	0.049174
Fluoxetine vs. control							
ENSDARG00000093998	si:ch73-7i4.2	164.8442	5.23191	0.601678	8.695536	3.45E-18	7.63E-14
ENSDARG00000075757	gig2e	11.43792	-3.85335	0.635052	-6.06777	1.3E-09	1.43E-05
ENSDARG00000102639	si:dkey-29d5.2	41.03763	5.294999	0.903836	5.858365	4.67E-09	3.44E-05
ENSDARG00000069839	CU571382.1	29.63909	-3.57225	0.656588	-5.44063	5.31E-08	0.000276
ENSDARG00000078389	ifi46	158.1358	-2.7274	0.50396	-5.41194	6.23E-08	0.000276
ENSDARG00000087102	si:ch1073-164k15.3	54.19928	-5.37584	1.034098	-5.19858	2.01E-07	0.00074
ENSDARG00000026979	krt1-c5	299.3362	7.266663	1.457883	4.984394	6.22E-07	0.001963
ENSDARG00000090600	si:ch211-213a13.1	323.8362	-3.46337	0.701894	-4.93433	8.04E-07	0.002101
ENSDARG00000029720	si:dkeyp-9d4.2	118.4261	-2.8883	0.586773	-4.92235	8.55E-07	0.002101
ENSDARG00000092919	zp3c	4.913544	-5.64865	1.157449	-4.88026	1.06E-06	0.002342
ENSDARG00000088251	lgals17	195.6001	-4.28668	0.888117	-4.8267	1.39E-06	0.00279
ENSDARG00000074052	si:ch211-281g13.5	61.93331	-3.9522	0.853709	-4.62945	3.67E-06	0.00548
ENSDARG00000094719	CR318588.3	1227.035	-3.8692	0.838033	-4.617	3.89E-06	0.00548
ENSDARG00000092653	si:dkey-1h24.6	10.56826	-1.78926	0.384799	-4.64985	3.32E-06	0.00548
ENSDARG00000074466	gdpd3a	29.9061	1.20471	0.261146	4.613172	3.97E-06	0.00548
ENSDARG00000111309	AL935126.2	37.11771	8.144139	1.759393	4.628947	3.68E-06	0.00548
ENSDARG00000007018	ms4a17a.6	23.82854	-1.67663	0.371835	-4.50908	6.51E-06	0.00805
ENSDARG00000010252	jak3	44.89497	-1.33266	0.296398	-4.49619	6.92E-06	0.00805
ENSDARG00000052165	si:ch211-236k19.2	75.20497	5.87199	1.304001	4.503057	6.7E-06	0.00805
ENSDARG00000019601	col12a1b	137.9121	-3.57917	0.814411	-4.3948	1.11E-05	0.011672
ENSDARG00000076158	zgc:165583	14.77398	-1.88427	0.428078	-4.40171	1.07E-05	0.011672

ENSDARG00000095309	si:dkey-79f11.9	36.29543	-4.0224	0.920755	-4.36859	1.25E-05	0.01202
ENSDARG00000087641	cdh26.2	27.49433	2.372439	0.542722	4.371371	1.23E-05	0.01202
ENSDARG00000008592	mtmr8	211.84	-2.03965	0.471631	-4.32466	1.53E-05	0.012831
ENSDARG00000012881	slc4a1a	147.5154	-1.46805	0.339068	-4.32966	1.49E-05	0.012831
ENSDARG00000078193	si:ch211-67e16.3	11.84568	-1.37999	0.317853	-4.34161	1.41E-05	0.012831
ENSDARG00000094554	si:ch73-7i4.1	37.6995	3.148321	0.728938	4.319054	1.57E-05	0.012831
ENSDARG00000095026	si:dkey-58f10.14	10.72728	-4.04741	0.938916	-4.31072	1.63E-05	0.012848
ENSDARG00000024032	coch	283.3135	-3.06525	0.713951	-4.29337	1.76E-05	0.012969
ENSDARG00000079402	tapbp.1	144.5193	-1.1655	0.271111	-4.299	1.72E-05	0.012969
ENSDARG00000086374	isg15	261.0382	-3.21871	0.762464	-4.22146	2.43E-05	0.016892
ENSDARG00000074656	ctss2.1	46.2542	-1.63579	0.387645	-4.21982	2.45E-05	0.016892
ENSDARG00000090267	CU062628.1	16.30255	2.569695	0.610233	4.211005	2.54E-05	0.017032
ENSDARG00000034473	ttyh3a	1828.15	-0.34355	0.082096	-4.18477	2.85E-05	0.018561
ENSDARG00000105364	si:ch73-223f5.1	249.9613	-2.32072	0.557109	-4.16566	3.1E-05	0.01961
ENSDARG00000022183	gsto1	561.16	0.825369	0.198708	4.153682	3.27E-05	0.020092
ENSDARG00000040282	zgc:92590	58.28274	3.142379	0.764166	4.112165	3.92E-05	0.02342
ENSDARG00000102835	CABZ01021435.1	26.96331	-1.43292	0.353846	-4.04957	5.13E-05	0.029853
ENSDARG00000039243	zgc:152791	379.5849	-4.19111	1.046639	-4.00435	6.22E-05	0.034371
ENSDARG00000076586	csf2rb	50.70728	-1.28586	0.320894	-4.00713	6.15E-05	0.034371
ENSDARG00000089227	si:ch211-91p5.3	148.7863	-1.27266	0.320772	-3.96749	7.26E-05	0.039165
ENSDARG00000010729	CABZ01073795.1	515.0924	-3.24934	0.832737	-3.902	9.54E-05	0.04894
ENSDARG00000076182	stat1b	200.0531	-2.82559	0.725852	-3.89279	9.91E-05	0.04894
ENSDARG00000070132	aste1a	46.78711	-2.44764	0.63025	-3.8836	0.000103	0.04894
ENSDARG00000010619	themis	14.19646	-1.45562	0.375914	-3.87223	0.000108	0.04894
ENSDARG00000040942	pnp6	782.434	0.657659	0.169004	3.891394	9.97E-05	0.04894
ENSDARG00000092062	BX511123.2	74.96263	0.881983	0.227854	3.87082	0.000108	0.04894
ENSDARG00000056248	si:dkey-183i3.5	63.86707	2.962784	0.764435	3.875781	0.000106	0.04894
ENSDARG00000101585	tecra	76.98249	5.307561	1.359124	3.905133	9.42E-05	0.04894
Fluoxetine vs. CUS							
ENSDARG00000100302	si:dkey-237g15.2	108.2872	2.90793	0.581199	5.003329	5.63E-07	0.013086
ENSDARG00000100434	znf1091	28.42767	3.918893	0.807863	4.850939	1.23E-06	0.014269
ENSDARG00000094386	adgrg4b	49.28134	-7.56984	1.691682	-4.47474	7.65E-06	0.028179
ENSDARG00000102558	pde6ha	146.3818	2.761691	0.621272	4.445218	8.78E-06	0.028179
ENSDARG00000002696	gnb3b	50.1038	3.23506	0.727714	4.445509	8.77E-06	0.028179
ENSDARG00000056511	arr3a	96.37119	3.967655	0.888263	4.466758	7.94E-06	0.028179
ENSDARG00000035798	gngt1	231.2607	4.899159	1.107504	4.423605	9.71E-06	0.028179
ENSDARG00000104919	si:ch211-153b23.3	15.75144	6.587543	1.444016	4.561959	5.07E-06	0.028179
ENSDARG00000052057	pcolceb	37.76886	-3.10023	0.725539	-4.27301	1.93E-05	0.043741
ENSDARG00000059163	rbp3	153.2547	3.47854	0.809138	4.299067	1.72E-05	0.043741
ENSDARG00000012610	saga	87.58627	5.196321	1.220649	4.257013	2.07E-05	0.043741
ENSDARG00000099860	pkmb	19.15483	-2.12218	0.509276	-4.16705	3.09E-05	0.049546
ENSDARG00000057648	dnttip2	254.251	0.536119	0.129562	4.137921	3.5E-05	0.049546
ENSDARG00000095801	BX649485.2	68.99263	2.90827	0.702904	4.137506	3.51E-05	0.049546
ENSDARG00000008306	rdh5	41.4861	4.202817	1.020871	4.116895	3.84E-05	0.049546
ENSDARG00000041379	si:ch211-245j22.3	53.2759	5.096952	1.235552	4.125244	3.7E-05	0.049546
ENSDARG00000043483	otx5	21.80288	5.151354	1.233783	4.175251	2.98E-05	0.049546

ENSDARG00000105096	si:ch1073-67j19.1	13.8963	5.255277	1.261485	4.165945	3.1E-05	0.049546

Table A.7. Statistics on gene sets enriched in analyzes. Analysis of the KEGG and GO pathways was performed on normalized and log-transformed counts using the generally applicable gene set enrichment for pathway analysis (GAGE) package, using a two-tailed t-test to compare differential expression of gene sets *[192]*. The false discovery rate was set at 0.05 for KEGG and 0.01 for GO. The decrease in the coefficient for GO is associated with a large number of presented sets and a large number of sets <0.05, which makes it difficult to maintain the initial emphasis of the analysis on finding the sets that have most changed their expression. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Set	**p.geomean**	**stat.mean**	**p.val**	**q.val**	**set.size**
Stress vs. control, upregulated sets					
GO					
GO:0043292 contractile fiber	5.7E-11	6.756234	5.7E-11	9.17E-08	134
GO:0030016 myofibril	6.37E-11	6.73993	6.37E-11	9.17E-08	133
GO:0044449 contractile fiber part	7.13E-11	6.723342	7.13E-11	9.17E-08	132
GO:0030017 sarcomere	7.97E-11	6.707025	7.97E-11	9.17E-08	131
GO:0005865 striated muscle thin filament	3.3E-10	6.94235	3.3E-10	2.53E-07	54
GO:0036379 myofilament	3.3E-10	6.94235	3.3E-10	2.53E-07	54
GO:0003735 structural constituent of ribosome	6.6E-10	6.388184	6.6E-10	4.34E-07	152
GO:0099080 supramolecular complex	1.24E-09	6.0308	1.24E-09	6.32E-07	435
GO:0099081 supramolecular polymer	1.24E-09	6.0308	1.24E-09	6.32E-07	435
GO:0099512 supramolecular fiber	1.83E-09	5.963975	1.83E-09	8.44E-07	434
GO:0005861 troponin complex	8.57E-09	6.964295	8.57E-09	3.51E-06	25
GO:0044391 ribosomal subunit	9.15E-09	5.901812	9.15E-09	3.51E-06	142
GO:0005840 ribosome	2.03E-08	5.663013	2.03E-08	7.18E-06	179
GO:0003009 skeletal muscle contraction	2.56E-08	6.543129	2.56E-08	8.42E-06	28
GO:0050879 multicellular organismal movement	4.14E-08	6.29183	4.14E-08	1.19E-05	31
GO:0050881 musculoskeletal movement	4.14E-08	6.29183	4.14E-08	1.19E-05	31
GO:0006397 mRNA processing	9.51E-08	5.287186	9.51E-08	2.58E-05	292
GO:0009199 ribonucleoside triphosphate metabolic process	1.12E-07	5.307604	1.12E-07	2.87E-05	143
GO:0009205 purine ribonucleoside triphosphate metabolic process	1.39E-07	5.273186	1.39E-07	3.37E-05	134
GO:0009144 purine nucleoside triphosphate metabolic process	1.58E-07	5.245025	1.58E-07	3.64E-05	136
GO:0006936 muscle contraction	1.9E-07	5.267732	1.9E-07	4.17E-05	117
GO:0098798 mitochondrial protein complex	3.07E-07	5.097474	3.07E-07	6.42E-05	198
GO:0003012 muscle system process	3.95E-07	5.101369	3.95E-07	7.9E-05	124
GO:0009141 nucleoside triphosphate metabolic process	4.26E-07	5.027818	4.26E-07	8.18E-05	152
GO:0044455 mitochondrial membrane part	6.54E-07	4.952215	6.54E-07	0.00012	163
GO:0044445 cytosolic part	1.05E-06	4.843757	1.05E-06	0.000186	159
GO:0008380 RNA splicing	2.22E-06	4.653209	2.22E-06	0.000379	237
GO:0046034 ATP metabolic process	3.84E-06	4.57801	3.84E-06	0.000631	117
GO:0022626 cytosolic ribosome	4.99E-06	4.59203	4.99E-06	0.000792	87
GO:0070469 respiratory chain	7.28E-06	4.524333	7.28E-06	0.001117	75
GO:0030018 Z disc	8.43E-06	4.457722	8.43E-06	0.001252	74
GO:0006941 striated muscle contraction	8.99E-06	4.583173	8.99E-06	0.001294	50

GO:0006412 translation	9.52E-06	4.3053	9.52E-06	0.001328	412
GO:0098800 inner mitochondrial membrane protein complex	1.04E-05	4.375027	1.04E-05	0.001408	109
GO:0031674 I band	1.09E-05	4.381794	1.09E-05	0.001431	83
GO:0044427 chromosomal part	1.14E-05	4.259254	1.14E-05	0.001462	461
GO:0016071 mRNA metabolic process	1.19E-05	4.253874	1.19E-05	0.001484	391
GO:0043043 peptide biosynthetic process	1.4E-05	4.216929	1.4E-05	0.001692	417
GO:0015934 large ribosomal subunit	1.43E-05	4.383207	1.43E-05	0.001692	83
GO:0009123 nucleoside monophosphate metabolic process	1.58E-05	4.221616	1.58E-05	0.001822	162
GO:0000003 reproduction	1.65E-05	4.189676	1.65E-05	0.001855	255
GO:0006518 peptide metabolic process	1.71E-05	4.164812	1.71E-05	0.001873	491
GO:0005179 hormone activity	2E-05	4.189538	2E-05	0.002146	115
GO:0017144 drug metabolic process	2.38E-05	4.091858	2.38E-05	0.002436	365
GO:0009161 ribonucleoside monophosphate metabolic process	2.38E-05	4.124877	2.38E-05	0.002436	158
GO:0006091 generation of precursor metabolites and energy	2.44E-05	4.113422	2.44E-05	0.002439	176
GO:0098803 respiratory chain complex	2.62E-05	4.224879	2.62E-05	0.002517	67
GO:0000375 RNA splicing, via transesterification reactions	2.73E-05	4.09329	2.73E-05	0.002517	187
GO:0000377 RNA splicing, via transesterification reactions	2.73E-05	4.09329	2.73E-05	0.002517	187
GO:0000398 mRNA splicing, via spliceosome	2.73E-05	4.09329	2.73E-05	0.002517	187
GO:0005746 mitochondrial respiratory chain	2.8E-05	4.204058	2.8E-05	0.002523	66
GO:0022414 reproductive process	2.85E-05	4.060517	2.85E-05	0.002523	251
GO:0009126 purine nucleoside monophosphate metabolic process	3.03E-05	4.070776	3.03E-05	0.002585	145
GO:0009167 purine ribonucleoside monophosphate metabolic process	3.03E-05	4.070776	3.03E-05	0.002585	145
GO:0019866 organelle inner membrane	3.54E-05	4.009657	3.54E-05	0.002968	259
GO:0006281 DNA repair	3.89E-05	3.984296	3.89E-05	0.003201	286
GO:0009201 ribonucleoside triphosphate biosynthetic process	4.36E-05	4.031523	4.36E-05	0.003526	79
GO:0006259 DNA metabolic process	4.57E-05	3.931776	4.57E-05	0.003627	460
GO:0005743 mitochondrial inner membrane	4.76E-05	3.941233	4.76E-05	0.003712	232
GO:0045214 sarcomere organization	5.02E-05	4.062879	5.02E-05	0.003849	57
GO:0044429 mitochondrial part	5.14E-05	3.901409	5.14E-05	0.003879	475
GO:0009145 purine nucleoside triphosphate biosynthetic process	5.54E-05	3.984612	5.54E-05	0.004049	70
GO:0009206 purine ribonucleoside triphosphate biosynthetic process	5.54E-05	3.984612	5.54E-05	0.004049	70
GO:0022625 cytosolic large ribosomal subunit	5.81E-05	4.160117	5.81E-05	0.004184	47
GO:0044451 nucleoplasm part	6.86E-05	3.834049	6.86E-05	0.004862	413
GO:0051321 meiotic cell cycle	7.82E-05	3.862158	7.82E-05	0.005438	101
GO:0031033 myosin filament organization	8.15E-05	4.084641	8.15E-05	0.005438	28
GO:0031034 myosin filament assembly	8.15E-05	4.084641	8.15E-05	0.005438	28
GO:0071688 striated muscle myosin thick filament assembly	8.15E-05	4.084641	8.15E-05	0.005438	28
GO:0015935 small ribosomal subunit	8.86E-05	3.954587	8.86E-05	0.00577	59
GO:0009259 ribonucleotide metabolic process	8.9E-05	3.775155	8.9E-05	0.00577	267
GO:0019693 ribose phosphate metabolic process	9.03E-05	3.770041	9.03E-05	0.005778	279
GO:0015078 proton transmembrane transporter activity	9.44E-05	3.796702	9.44E-05	0.005957	113
GO:0009142 nucleoside triphosphate biosynthetic process	0.000114	3.770568	0.000114	0.007079	85
GO:0031672 A band	0.000116	3.917425	0.000116	0.0071	35
GO:0051726 regulation of cell cycle	0.000119	3.692054	0.000119	0.007231	412
GO:0009150 purine ribonucleotide metabolic process	0.000129	3.680693	0.000129	0.007709	252
GO:0030240 skeletal muscle thin filament assembly	0.000156	3.884542	0.000156	0.009192	28

GO:0030241 skeletal muscle myosin thick filament assembly	0.000158	3.889877	0.000158	0.009192	27
KEGG					
dre03010 Ribosome	7.59E-10	6.444811	7.59E-10	1.15E-07	127
dre00190 Oxidative phosphorylation	3.70E-08	5.574204	3.70E-08	2.79E-06	134
dre03040 Spliceosome	0.000233	3.558233	0.000233	0.011711	131
dre01200 Carbon metabolism	0.000357	3.425732	0.000357	0.013459	131
dre00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0.001543	3.007828	0.001543	0.046611	76
dre00983 Drug metabolism - other enzymes	0.001959	2.941778	0.001959	0.049312	61
Stress vs. control, downregulated sets					
GO					
GO:0004713 protein tyrosine kinase activity	2.73E-07	-5.14243	2.73E-07	0.001048	127
GO:0043235 receptor complex	4.55E-07	-4.96885	4.55E-07	0.001048	269
GO:0043207 response to external biotic stimulus	5.94E-06	-4.42465	5.94E-06	0.006837	256
GO:0051707 response to other organism	5.94E-06	-4.42465	5.94E-06	0.006837	256
GO:0009607 response to biotic stimulus	8.13E-06	-4.35321	8.13E-06	0.007487	259
GO:0009615 response to virus	1.29E-05	-4.36962	1.29E-05	0.009014	67
GO:0007169 transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway	1.37E-05	-4.22875	1.37E-05	0.009014	284
GO:0019199 transmembrane receptor protein kinase activity	1.73E-05	-4.24773	1.73E-05	0.009953	91
KEGG					
dre04010 MAPK signaling pathway	4.24E-07	-4.96907	4.24E-07	6.4E-05	349
dre04621 NOD-like receptor signaling pathway	0.000148	-3.66037	0.000148	0.011205	154
dre04620 Toll-like receptor signaling pathway	0.00026	-3.53213	0.00026	0.013066	95
dre04744 Phototransduction	0.000359	-3.56559	0.000359	0.013567	36
Fluoxetine vs. control, upregulated sets					
GO					
GO:0030017 sarcomere	1.17E-07	5.333424	1.17E-07	0.000226	131
GO:0044449 contractile fiber part	1.46E-07	5.285806	1.46E-07	0.000226	132
GO:0030016 myofibril	1.62E-07	5.263313	1.62E-07	0.000226	133
GO:0043292 contractile fiber	2.02E-07	5.216665	2.02E-07	0.000226	134
GO:0009144 purine nucleoside triphosphate metabolic process	3.38E-07	5.092253	3.38E-07	0.000226	136
GO:0009199 ribonucleoside triphosphate metabolic process	3.69E-07	5.068422	3.69E-07	0.000226	143
GO:0009205 purine ribonucleoside triphosphate metabolic process	3.98E-07	5.059764	3.98E-07	0.000226	134
GO:0006163 purine nucleotide metabolic process	4.31E-07	4.981415	4.31E-07	0.000226	262
GO:0019693 ribose phosphate metabolic process	4.87E-07	4.953079	4.87E-07	0.000226	279
GO:0009259 ribonucleotide metabolic process	6.79E-07	4.887383	6.79E-07	0.000226	267
GO:0006936 muscle contraction	6.9E-07	4.97093	6.9E-07	0.000226	117
GO:0009126 purine nucleoside monophosphate metabolic process	7.34E-07	4.919859	7.34E-07	0.000226	145
GO:0009167 purine ribonucleoside monophosphate metabolic process	7.34E-07	4.919859	7.34E-07	0.000226	145
GO:0006091 generation of precursor metabolites and energy	7.39E-07	4.901995	7.39E-07	0.000226	176
GO:0009150 purine ribonucleotide metabolic process	8.2E-07	4.851689	8.2E-07	0.000226	252
GO:0005865 striated muscle thin filament	8.7E-07	5.11086	8.7E-07	0.000226	54
GO:0036379 myofilament	8.7E-07	5.11086	8.7E-07	0.000226	54
GO:0009123 nucleoside monophosphate metabolic process	8.83E-07	4.870419	8.83E-07	0.000226	162
GO:0034660 ncRNA metabolic process	1.16E-06	4.777442	1.16E-06	0.000276	332
GO:0003012 muscle system process	1.2E-06	4.8407	1.2E-06	0.000276	124
GO:0009161 ribonucleoside monophosphate metabolic process	1.26E-06	4.796776	1.26E-06	0.000276	158

GO:0072521 purine-containing compound metabolic process	1.32E-06	4.74342	1.32E-06	0.000276	298
GO:0003735 structural constituent of ribosome	2.25E-06	4.727254	2.25E-06	0.000451	152
GO:0009117 nucleotide metabolic process	2.67E-06	4.586984	2.67E-06	0.000513	346
GO:0046034 ATP metabolic process	3.03E-06	4.633455	3.03E-06	0.000558	117
GO:0006753 nucleoside phosphate metabolic process	3.6E-06	4.521899	3.6E-06	0.000638	350
GO:0022613 ribonucleoprotein complex biogenesis	3.79E-06	4.530983	3.79E-06	0.000647	308
GO:0044391 ribosomal subunit	4.1E-06	4.599033	4.1E-06	0.000675	142
GO:0098798 mitochondrial protein complex	4.92E-06	4.503932	4.92E-06	0.000781	198
GO:0009141 nucleoside triphosphate metabolic process	6.48E-06	4.434776	6.48E-06	0.000994	152
GO:0044455 mitochondrial membrane part	7.59E-06	4.415163	7.59E-06	0.001128	163
GO:0003009 skeletal muscle contraction	9.42E-06	4.776851	9.42E-06	0.00132	28
GO:0006412 translation	9.46E-06	4.309842	9.46E-06	0.00132	412
GO:0050879 multicellular organismal movement	1.18E-05	4.652965	1.18E-05	0.001554	31
GO:0050881 musculoskeletal movement	1.18E-05	4.652965	1.18E-05	0.001554	31
GO:0055086 nucleobase-containing small molecule metabolic process	1.3E-05	4.230349	1.3E-05	0.00166	415
GO:0034470 ncRNA processing	1.37E-05	4.245744	1.37E-05	0.001665	254
GO:0006941 striated muscle contraction	1.37E-05	4.431813	1.37E-05	0.001665	50
GO:0007601 visual perception	1.56E-05	4.238356	1.56E-05	0.001837	147
GO:0005840 ribosome	1.63E-05	4.228984	1.63E-05	0.001875	179
GO:0043043 peptide biosynthetic process	1.98E-05	4.138762	1.98E-05	0.002219	417
GO:0015980 energy derivation by oxidation of organic compounds	2.13E-05	4.185421	2.13E-05	0.00233	123
GO:0050953 sensory perception of light stimulus	2.46E-05	4.123614	2.46E-05	0.002636	154
GO:0006518 peptide metabolic process	2.53E-05	4.073881	2.53E-05	0.002644	491
GO:0070469 respiratory chain	3.16E-05	4.165479	3.16E-05	0.00323	75
GO:0009127 purine nucleoside monophosphate biosynthetic process	3.59E-05	4.07192	3.59E-05	0.003516	85
GO:0009168 purine ribonucleoside monophosphate biosynthetic process	3.59E-05	4.07192	3.59E-05	0.003516	85
GO:0043604 amide biosynthetic process	3.87E-05	3.973568	3.87E-05	0.003712	480
GO:0009124 nucleoside monophosphate biosynthetic process	4.47E-05	3.999043	4.47E-05	0.00415	101
GO:0017144 drug metabolic process	4.51E-05	3.938214	4.51E-05	0.00415	365
GO:0042254 ribosome biogenesis	5.55E-05	3.917606	5.55E-05	0.005014	205
GO:0030018 Z disc	5.89E-05	3.97508	5.89E-05	0.005215	74
GO:0009156 ribonucleoside monophosphate biosynthetic process	6.16E-05	3.919026	6.16E-05	0.005352	98
GO:0006164 purine nucleotide biosynthetic process	6.51E-05	3.874823	6.51E-05	0.005555	156
GO:0098800 inner mitochondrial membrane protein complex	6.72E-05	3.911589	6.72E-05	0.005629	109
GO:0009260 ribonucleotide biosynthetic process	7.46E-05	3.837522	7.46E-05	0.006137	164
GO:0009152 purine ribonucleotide biosynthetic process	7.62E-05	3.836548	7.62E-05	0.006157	150
GO:0046390 ribose phosphate biosynthetic process	7.93E-05	3.821061	7.93E-05	0.006297	167
GO:0009201 ribonucleoside triphosphate biosynthetic process	8.25E-05	3.861156	8.25E-05	0.006438	79
GO:0009145 purine nucleoside triphosphate biosynthetic process	9.11E-05	3.847039	9.11E-05	0.006879	70
GO:0009206 purine ribonucleoside triphosphate biosynthetic process	9.11E-05	3.847039	9.11E-05	0.006879	70
GO:0098803 respiratory chain complex	0.000107	3.854088	0.000107	0.007957	67
GO:0019752 carboxylic acid metabolic process	0.00011	3.708618	0.00011	0.008036	500
GO:0045333 cellular respiration	0.000127	3.752971	0.000127	0.009139	88
GO:0005861 troponin complex	0.000129	3.998797	0.000129	0.009139	25
GO:0072522 purine-containing compound biosynthetic process	0.000135	3.682199	0.000135	0.009406	168
GO:0005746 mitochondrial respiratory chain	0.000138	3.779315	0.000138	0.009497	66

KEGG					
dre00190 Oxidative phosphorylation	2.52E-06	4.679714	2.52E-06	0.000198	134
dre03010 Ribosome	2.62E-06	4.725296	2.62E-06	0.000198	127
dre04744 Phototransduction	7.92E-05	4.016019	7.92E-05	0.003691	36
dre01200 Carbon metabolism	9.78E-05	3.779534	9.78E-05	0.003691	131
dre00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0.000833	3.202248	0.000833	0.025153	76
dre03040 Spliceosome	0.001156	3.088301	0.001156	0.029099	131
Fluoxetine vs. control, downregulated sets					
GO					
GO:0006955 immune response	7.61E-07	-4.84991	7.61E-07	0.003505	423
Fluoxetine vs. Stress, upregulated sets					
GO					
GO:0007601 visual perception	7.36E-08	5.440696	7.36E-08	0.000271	147
GO:0050953 sensory perception of light stimulus	1.18E-07	5.335551	1.18E-07	0.000271	154
GO:0005261 cation channel activity	4.77E-06	4.464657	4.77E-06	0.005886	313
GO:0001653 peptide receptor activity	5.11E-06	4.483654	5.11E-06	0.005886	162
GO:0050877 nervous system process	6.56E-06	4.388221	6.56E-06	0.005946	419
GO:0005216 ion channel activity	7.75E-06	4.347982	7.75E-06	0.005946	408
KEGG					
dre04010 MAPK signaling pathway	5.6E-08	5.362301	5.6E-08	8.45E-06	349
dre04744 Phototransduction	1.29E-05	4.710578	1.29E-05	0.000971	36
Fluoxetine vs. Stress, downregulated sets					
GO					
GO:0099080 supramolecular complex	9.16E-07	-4.80511	9.16E-07	0.001996	435
GO:0099081 supramolecular polymer	9.16E-07	-4.80511	9.16E-07	0.001996	435
GO:0099512 supramolecular fiber	1.3E-06	-4.73273	1.3E-06	0.001996	434
GO:0044427 chromosomal part	1.76E-06	-4.66885	1.76E-06	0.002025	461
GO:0005865 striated muscle thin filament	3.46E-06	-4.79302	3.46E-06	0.002657	54
GO:0036379 myofilament	3.46E-06	-4.79302	3.46E-06	0.002657	54
GO:0005861 troponin complex	4.07E-06	-5.14199	4.07E-06	0.002676	25
GO:0043292 contractile fiber	8.54E-06	-4.39165	8.54E-06	0.004915	134
GO:0030016 myofibril	1.07E-05	-4.33912	1.07E-05	0.005311	133
GO:0007059 chromosome segregation	1.18E-05	-4.30405	1.18E-05	0.005311	151
GO:0044449 contractile fiber part	1.27E-05	-4.29935	1.27E-05	0.005311	132
GO:0003735 structural constituent of ribosome	1.57E-05	-4.26674	1.57E-05	0.005614	152
GO:0030017 sarcomere	1.58E-05	-4.24659	1.58E-05	0.005614	131
KEGG					
dre03010 Ribosome	1.37E-05	-4.32619	1.37E-05	0.002074	127

Table A.8. Statistics for quantitative real-time PCR analysis for the last week of CUS 4 selected genes, which showed statistical differences in the analysis of differential expression by RNA sequencing *[192]*. The data were analyzed by the Pfaffle method. Dunn's post-hawk test for pairwise comparisons of statistically significant data on the KB-test (see also Fig. 12). C - Control, S - CUS, F -Fluoxetine

Group	**Mean±SEM**	**KW-test**	**P**	**Dunn test**	
		saga			
Control	1.461±0.4057	**8.302**	**0.0157**	C vs. S	0.1344

CUS	0.6749±0.1122			C vs. F	>0.9999
Fluoxetine	1.901±0.47			**S vs. F**	**0.0156**
		isg15			
Control	2.384±0.7881	**21.6**	**<0.0001**	**C vs. S**	**<0.0001**
CUS	0.0229±0.007507			**C vs. F**	**0.0277**
Fluoxetine	0.1818±0.06124			S vs. F	0.1264
		otx5			
Control	3.013±1.067	**12.71**	**0.0017**	**C vs. S**	**0.0384**
CUS	0.5811±0.2882			C vs. F	>0.9999
Fluoxetine	3.904±1.102			**S vs. F**	**0.0017**
		tpm4			
Control	1.09±0.1964	**7.804**	**0.0202**	**C vs. S**	**0.0183**
CUS	2.325±0.4452			C vs. F	>0.9999
Fluoxetine	1.37±0.1431			S vs. F	0.2023

Table A.9. Protocol used to model Chronic Unpredictable Stress in rats (see also Table A.10 for a description of Stress Effects) [193].

Day	**Stressors**
1	Strong smell + noise 30 min + bright light (150 lux) 24 h
2	Flashing light 4 h + crowding 6 h + water deprivation 12 h
3	Social isolation 6 h + cells tilt 24 h
4	Discontinuous light + swimming 20 min + food deprivation
5	Shaking 20 min + noise 4 h + day-night inversion
6	Stress novelty + predator exposure 24 h + darkness 24 h
7	Stroboscope lightning (150 lux) 6 h+ novel objects + Strong smell
8	Discontinuous light + cells tilt 24 h + day night inversion
9	Crowding 8 h + Shaking 30 min
10	Water and food deprivation (with empty bottles) 12 h + Light 24 h
11	Flashing light 8 h + noise 2 h + Sleep deprivation
12	Swimming 30 min + Shaking 10 min + predator exposure 24 h
13	Novel objects 24 h + day-night inversion
14	Strong smell + noise 4 h + Discontinuous light
15	Social isolation 10 h + cells tilt 24 h
16	Stress novelty + Predator exposure 24 h + Light 24 h
17	Noise 6 h + Flashing light 4 h + food deprivation 24 h
18	Swimming 30 min + water deprivation 12 h + day-night inversion
19	Crowding 8 h + Strong smell + Light 24 h
20	Flashing light 10 h + cells tilt 24 h + Predator exposure 24 h
21	Stroboscope lightning 8 h + novel objects 24 h
22	Strong smell + Discontinuous light + Sleep deprivation 24 h
23	Noise 8 h + water and food deprivation + darkness 24 h
24	Flashing light 8 h + novel objects and cells tilt 24 h

25	Swimming 30 min + Stroboscope lightning 6 h + predator exposure 24 h
26	Crowding 6 h + food deprivation 10 h + darkness 24 h
27	Shaking 40 min+ Flashing light 8 h
28	Social isolation 8 h with noise 6 h + day-night inversion
29	Stress novelty + Stroboscope lightning with novel objects 8 h + predator exposure 24 h
30	Crowding 8 h + water deprivation (with empty bottles) 12 h + cells tilt 24 h
31	Shaking 35 min + darkness 24 h with flashing light (4 h)
32	Noise 6 h +Discontinuous light + Sleep deprivation
33	Social isolation 8 h + Light 24 h + food deprivation 24 h
34	Swimming 25 min + Discontinuous light + cells tilt 24 h
35	Flashing light 10 h + novel objects 24 h + noise 2 h
36	Shaking 30 min + Predator exposure 24 h + Light 24 h
37	Noise 4 h + food deprivation + day-night inversion
38	Crowding 6 h + Discontinuous light
39	Shaking 40 min + novel objects + Stroboscope lightning 6 h
40	Swimming 20 min + Predator exposure 24 h + water deprivation 24 h
41	Social isolation 10 h + darkness 24 h + food deprivation 24 h
42	Noise 6 h + Flashing light 8 h + cells tilt 24 h
43	Novel objects 24 h + Strong smell + Light 24 h
44	Swimming 5 min + Stroboscope lightning 8 h + Predator exposure 24 h
45	Crowding 10 h + noise 12 h + food deprivation 24 h
46	Stress novelty + Shaking 20 min + darkness 24 h
47	Noise 4 h + Discontinuous light + Predator exposure 24 h
48	Water deprivation 10 h + cells tilt 24 h + day-night inversion
49	Social isolation 8 h + noise 2 h + Stroboscope lightning 2 h
50	Shaking 30 min + Predator exposure 24 h + darkness 24 h
51	Strong smell + Discontinuous light + Stress novelty
52	Noise 6 h + crowding 12 h + Sleep deprivation
53	Swimming 30 min + Flashing light 4 h + Predator exposure 24 h
54	Social isolation 6 h + food deprivation 24 h + Light 24 h
55	Strong smell + novel objects 24 h + cells tilt 24 h
56	Stroboscope lightning 10 h + noise 5 h + day-night inversion
57	Social isolation 8 h + food deprivation 24 h + darkness 24 h
58	Shaking 20 min + Predator exposure 24 h + Flashing light 6 h
59	Novel objects + Discontinuous light+ water deprivation with empty bottles 24 h
60	Strong smell + noise 6 h + novel objects 24 h
61	Crowding 10 h + cells tilt 24 h + Light 24 h
62	Swimming 20 min + Discontinuous light + Predator exposure 24 h
63	Water deprivation with empty bottles 12 h + Strong smell + day-night inversion

64	Social isolation 8 h + noise 8 h + food deprivation 24 h
65	Flashing light 6 h + Light 24 h + predator exposure 24 h
66	Shaking 30 min + crowding 10 h
67	Noise 2 h + Stroboscope lightning 6 h + cells tilt 24 h
68	Predator exposure 24 h + darkness 24 h with flashing light (4 h)
69	Shaking 20 min + noise 8 h + novel objects 24 h
70	Social isolation 8 h + Discontinuous light + water and food deprivation 24 h
71	Swimming 20 min + Predator exposure 24 h + darkness 24 h
72	Strong smell + novel objects 24 h + Flashing light 10 h
73	Social isolation 8 h + Light 24 h
74	Noise 8 h +Discontinuous light + food deprivation 24 h
75	Crowding 10 h + Shaking 30 min + predator exposure 24 h
76	Water deprivation (with empty bottles) 12 h + cells tilt 24 h + day night inversion
77	Noise 6 h + Stroboscope lightning 8 h + Sleep deprivation 24 h
78	Predator exposure 24 h + Discontinuous light 8 h
79	Social isolation 8 h + Strong smell 24 h + darkness 24 h
80	Shaking 40 min + crowding 8 h
81	Swimming 30 min + Stroboscope lightning with novel objects + noise 4 h
82	Stress novelty + cells tilt 24 h + day night inversion
83	Social isolation 6 h + noise 6 h + Sleep deprivation 24 h
84	Flashing light in darkness 6 h + predator exposure 24 h
85	Day of behavioral testing: elevated plus-maze test
86	Euthanasia and collection of samples

Table A.10. Stress manipulations that were used to model Chronic Unpredictable Stress in rats (see also Table A.9) [193].

Stressors	**Descriptions**	**References**
Crowding	A twofold increase in cage population density (8 rats per cage)	[472]
Strong smell	A sponge soaked in lemon and bergamot essential oil was placed 5-10 cm from the containment cage for 24 hours. Essential oils were chosen as an aversive stimulus for rats	[473]
Novel objects	Two plastic toys (6-13 cm) were placed in the containment cage for 24 hours.	[474]
Flashing light	A Christmas lights (5 Hz, 150 lux) was used as a source of flashing light located on top of the home cage.	[475]
Water deprivation	Removing a bottle of water or placing an empty bottle in a cage	[27, 476]
Food deprivation	Removing food from the cage	[27, 476]
Shaking	Moving the trolley (100x100x150 cm) with home cages at a constant speed of 6 km / h	[27]

Forced swimming	Rats were individually placed in a 20 L plastic container filled with water (22-24 ˚C) without the ability to touch the bottom of the container with their legs and tail	[79]
Novelty stress	Rats were individually placed in new/unfamiliar plastic containers (39 x 28 x 28 cm, 56 x 39 x 28 cm or 56 x 39 x 42 cm) for 5 min.	[477]
Day and night inversion	Lack of lighting during the day, turning on day lamps at night	[27, 476]
Predator exposure	Predator (cat) urine was presented on a soaked sponge and placed near the containment cage (5-10 cm)	[473]
Light or darkness	Continuously (24 hours) Light on or off	[476]
Discontinuous Light	Holding room lights on and off sequentially every 2 hours for 12 hours	[476]
Cages tilt	Cells are individually tilted at a 45-degree angle	[476, 478]
Noise (drill sound)	Sound 50 dB using sound from the online video at www.youtube.com/watch?v=7Xomg2zge-8	[479]
Social isolation		[480]
Sleep deprivation	Isolation of rats in separate plastic containers (30 x 20 x 20 cm) with bedding	[481]
Stroboscope light	For deprivation, a wooden podium (6 cm in diameter, 5 cm in height) was used, placed on the floor of the cage in the opposite part from food and water. The cage was filled with water (22 ˚C) to a depth of 3 cm, thus preventing the animals from being in a comfortable sleeping position	[476]

Table A.11. Results of fitted Generalized Linear Models (GZLMs) using test day, group, and their interactions as predictors for comparing CUS, Fluoxetine, and control rats [193]. The adjusted Akaike Information Criterion was used to determine the model with the greatest match between the Gaussian distribution (identity link), Poisson distribution (inverse and log link), and inverse Gaussian distribution (with inverse and log link) for the Elevated plus maze (see also Tables A .12-13 and Fig. 15).

Closed arms, n	**Inversed Gauss distribution log link**			
	Estimate	**Std.Error**	**t**	**P**
(Intercept)	0.89793	0.50358	1.783	0.0806
Day	0.22600	0.36520	0.619	0.5388
Group Fluoxetine	0.63658	0.71913	0.885	0.3803
Group Stress	-0.47185	0.66373	-0.711	0.4804
Day:Group Fluoxetine	-0.58779	0.52028	-1.130	0.2640
Day:Group Stress	-0.09247	0.51455	-0.180	0.8581
Closed arms, s	**Gauss distribution**			
	Estimate	**Std.Error**	**t**	**P**
(Intercept)	**253.77**	**24.16**	**10.506**	**2.98e-14**
Day	2.100	16.87	0.124	0.901
Group Fluoxetine	21.33	36.13	0.590	0.558
Group Stress	-11.27	36.59	-0.308	0.759
Day:Group Fluoxetine	-12.65	26.61	-0.476	0.636
Day:Group Stress	16.96	28.24	0.601	0.551
Open arms, n	**Poisson distribution**			
	Estimate	**Std.Error**	**z**	**P**
(Intercept)	**1.15319**	**0.33561**	**3.436**	**0.00059**

Day	-0.00965	0.23440	-0.041	0.96716
Group Fluoxetine	-0.22959	0.50206	-0.457	0.64745
Group Stress	0.57870	0.50840	1.138	0.25500
Day:Group Fluoxetine	0.16022	0.36970	0.433	0.66473
Day:Group Stress	**-0.85622**	**0.39231**	**-2.183**	**0.02907**
Open arms, s	**Inversed Gauss distribution log link**			
	Estimate	**Std.Error**	**t**	**P**
(Intercept)	**3.1684**	**0.9874**	**3.209**	**0.00233**
Day	-0.1600	0.6716	-0.238	0.81262
Group Fluoxetine	-0.5126	0.57771	-0.339	0.73579
Group Stress	-0.64384	1.1447	1.363	0.17889
Day:Group Fluoxetine	0.4195	1.1316	0.371	0.71240
Day:Group Stress	**-2.2045**	**0.7503**	**-2.938**	**0.00498**

Table A.12. Type 2 ANOVA results (Wald Chi-square test) for Generalized Linear Models using group (Control, CUS, and Fluoxetine), test day, and their interaction as predictors (Table A.11) for rats in the Elevated plus maze test, see also Table A.13 [193]. Df – degrees of freedom.

Factors	**Df**	χ^2	**P**
		Closed arms, n	
Day	1	0.000258144444594892	0.987181040710445
Group	**2**	**9.90776011066659**	**0.00705597816132115**
Day:Group	2	1.4716091691711	0.479119811437751
		Closed arms, s	
Day	1	0.0492081843975094	0.82444686419516
Group	2	0.541215513219405	0.762915686358917
Day:Group	2	0.937930505529035	0.625649322362953
		Open arms, n	
Day	1	1.2375653986184	0.265940777273002
Group	**2**	**8.76336869954402**	**0.0125042792936004**
Day:Group	**2**	**6.61777433991574**	**0.0365568326679518**
		Open arms, s	
Day	**1**	**36.2734138900435**	**1.7148732934739e-09**
Group	**2**	**25.7309501105542**	**2.58580146058665e-06**
Day:Group	**2**	**13.8306981737093**	**0.000992434952240831**

Table A.13. Results of the Tukey post-hoc test for the statistically significant ANOVA predictor Group Generalized Linear Model (GZLM) comparing the effects of CUS, Fluoxetine, and Control in the Elevated plus maze, see also Tables A.11-12 [193].

Contrast	**Estimate**	**Std. error**	**z**	**p**
		Closed arms, n		
Control-Stress	**0.610546922893836**	**0.257277040173638**	**2.3731108010329**	**0.0176389716442184**
Control-Fluoxetine	0.245103168622314	0.260138601611405	0.942202222599967	0.346089116221525
Stress-Fluoxetine	-0.365443754271523	0.259186155899846	-1.40996633482514	0.158549623694827
		Open arms, n		
Control-Stress	**0.70562867847405**	**0.196152611681815**	**3.59734531405919**	**0.00032148156519638**

Control-Fluoxetine	-0.0107400068146624	0.184848467789041	-0.0581016815726028	0.953667634956621
Stress-Fluoxetine	**-0.716368685288713**	**0.212537704045719**	**-3.37054871513345**	**0.000750186407117175**
Open arms, s				
Control-Fluoxetine	-0.116740169278497	0.565824220599949	-0.206318791293021	0.836541900963172
Control-Stress	**1.74607531385393**	**0.375127437162614**	**4.65461904642562**	**3.24580260973444e-06**
Fluoxetine-Stress	**1.86281548313243**	**0.48516293456426**	**3.83956677318205**	**0.0001232516056595**

Table A.14. Results of statistical analysis of differential gene expression in the human subiculum in the MDD vs. Control group, using Negative Binomial (Gamma-Poisson) distribution to determine factor sizes, variance, generate negative binomial generalized linear models and Wald statistics using the DESeq function (Experiment 1) [373, 482]. P-value and FDR are set to 0.05.

Ensembl ID	Gene name	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
ENSG00000228971	LINC02607	583.1221	-1.70525	0.296063	-5.75973	8.42E-09	0.000129
ENSG00000072657	TRHDE	2478.091	-1.39391	0.254948	-5.46741	4.57E-08	0.000351
ENSG00000206306	HLA-DRB1	119.9883	-3.13795	0.584804	-5.36581	8.06E-08	0.000413
ENSG00000228080	HLA-DRB1	119.9883	-3.13795	0.584804	-5.36581	8.06E-08	0.000413
ENSG00000196126	HLA-DRB1	119.9883	-3.13795	0.584804	-5.36581	8.06E-08	0.000413
ENSG00000229074	HLA-DRB1	119.9883	-3.13795	0.584804	-5.36581	8.06E-08	0.000413
ENSG00000206240	HLA-DRB1	119.9883	-3.13795	0.584804	-5.36581	8.06E-08	0.000413
ENSG00000236884	HLA-DRB1	119.9883	-3.13795	0.584804	-5.36581	8.06E-08	0.000413
ENSG00000107105	ELAVL2	4363.99	-1.06935	0.216867	-4.93089	8.19E-07	0.002959
ENSG00000276495	APBA2	139.1171	-2.32477	0.474534	-4.89907	9.63E-07	0.002959
ENSG00000034053	APBA2	139.1171	-2.32477	0.474534	-4.89907	9.63E-07	0.002959
ENSG00000110799	VWF	831.6272	0.799513	0.174939	4.570246	4.87E-06	0.010692
ENSG00000164600	NEUROD6	4755.992	-1.22826	0.276449	-4.44301	8.87E-06	0.017036
ENSG00000121769	FABP3	3162.147	-0.91524	0.214055	-4.27572	1.91E-05	0.032522
ENSG00000145335	SNCA	8612.551	-0.79021	0.185892	-4.25093	2.13E-05	0.032706
ENSG00000104435	STMN2	23949.2	-0.68666	0.163157	-4.20858	2.57E-05	0.0329
ENSG00000145428	RNF175	728.6949	-0.71876	0.170753	-4.20935	2.56E-05	0.0329
ENSG00000162636	FAM102B	4363.323	-0.68536	0.164664	-4.1622	3.15E-05	0.035557
ENSG00000183662	TAFA1	1539.503	-0.89774	0.216016	-4.15589	3.24E-05	0.035557
ENSG00000019505	SYT13	5645.472	-0.96998	0.234776	-4.1315	3.6E-05	0.036912
ENSG00000107295	SH3GL2	6528.436	-0.81692	0.198764	-4.11002	3.96E-05	0.037987
ENSG00000283486	FAM95C	263.9834	1.595475	0.391803	4.072141	4.66E-05	0.042097
ENSG00000196169	KIF19	86.21406	1.48732	0.371343	4.005246	6.2E-05	0.048559
ENSG00000180347	ITPRID1	133.1223	1.258958	0.314702	4.000475	6.32E-05	0.048559
ENSG00000196950	SLC39A10	8492.392	-0.59877	0.14907	-4.01672	5.9E-05	0.048559

Table A.15. Results of statistical analysis of differential gene expression in the hippocampus of rats in the CUS vs. Control group, using Negative Binomial (Gamma-Poisson) distribution to determine factor sizes, variance, generate negative binomial generalized linear models and Wald statistics using the DESeq function (Experiment 1) [373, 482]. P-value and FDR are set to 0.05.

Ensembl ID	Gene name	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
ENSRNOG00000007027	Hgf	402.9687	1.881954	0.277063	6.79252	1.1E-11	1.72E-07
ENSRNOG00000032063	Gfral	29.41118	-4.88717	0.771475	-6.33484	2.38E-10	1.86E-06
ENSRNOG00000009206	Fezf2	892.2903	1.00551	0.17355	5.793776	6.88E-09	3.59E-05

ENSRNOG00000007189	Ttc22	395.3506	1.654937	0.302629	5.468535	4.54E-08	0.000178
ENSRNOG00000008182	Htra3	555.3568	1.112187	0.218047	5.100679	3.38E-07	0.001059
ENSRNOG00000005565	Traf3ip3	240.6712	1.318955	0.263839	4.999088	5.76E-07	0.001502
ENSRNOG00000003237	Tp53bp2	5684.032	1.207942	0.245775	4.914829	8.89E-07	0.001809
ENSRNOG00000006850	Ovol2	48.68037	4.566898	0.931696	4.901701	9.5E-07	0.001809
ENSRNOG00000013681	Kcns1	296.1628	1.418264	0.290402	4.883797	1.04E-06	0.001809
ENSRNOG00000003738	Ush2a	53.62552	-1.88434	0.394877	-4.77197	1.82E-06	0.002855
ENSRNOG00000016553	Vwa5b1	179.2027	-2.17474	0.466476	-4.66206	3.13E-06	0.004082
ENSRNOG00000021663	Vxn	16025.48	1.219877	0.261061	4.672773	2.97E-06	0.004082
ENSRNOG00000010597	Slc5a7	297.3285	-2.71896	0.588485	-4.62027	3.83E-06	0.004613
ENSRNOG00000002930	Ppl	557.1387	-3.70883	0.81792	-4.53447	5.77E-06	0.006455
ENSRNOG00000029165	Stx1a	6547.811	1.773803	0.399162	4.443819	8.84E-06	0.009219
ENSRNOG00000001036	Rsph10b	858.3706	-1.71746	0.397489	-4.32077	1.55E-05	0.014942
ENSRNOG00000009582	Rpe65	171.7668	-1.47984	0.343251	-4.31125	1.62E-05	0.014942
ENSRNOG00000026087	Igfn1	64.18883	2.060646	0.482999	4.26636	1.99E-05	0.017273
ENSRNOG00000006674	Rflnb	162.487	-1.13819	0.267591	-4.25349	2.1E-05	0.017333
ENSRNOG00000046001	AABR07030823,1	361.3258	-1.92709	0.454677	-4.23837	2.25E-05	0.017615
ENSRNOG00000016069	Cd3e	355.1246	-7.42458	1.806011	-4.11104	3.94E-05	0.028016
ENSRNOG00000046276	Myh3	45.12269	2.764341	0.672209	4.112322	3.92E-05	0.028016
ENSRNOG00000037196	Spag17	35.65181	-3.14672	0.767816	-4.09827	4.16E-05	0.028319
ENSRNOG00000055858	Myb	46.15645	-1.99927	0.489529	-4.08407	4.43E-05	0.028853
ENSRNOG00000016552	Hmgcs1	19742.62	0.758725	0.186912	4.059259	4.92E-05	0.030813
ENSRNOG00000019317	Cplx3	290.6864	2.425395	0.603178	4.021028	5.79E-05	0.032712
ENSRNOG00000025848	Sspo	118.0201	-4.26712	1.06183	-4.01865	5.85E-05	0.032712
ENSRNOG00000030016	Robo3	786.2084	-3.018	0.747903	-4.03529	5.45E-05	0.032712
ENSRNOG00000009946	Ldlr	1374.697	-0.76938	0.192215	-4.0027	6.26E-05	0.033574
ENSRNOG00000029938	Pik3c2b	911.4091	-0.82297	0.205937	-3.9962	6.44E-05	0.033574
ENSRNOG00000039107	Mfrp	139.0656	-3.26553	0.821798	-3.97364	7.08E-05	0.035729
ENSRNOG00000001346	Cops6	9958.779	0.636455	0.162577	3.914801	9.05E-05	0.041554
ENSRNOG00000006649	Thrb	2444.081	1.317001	0.335973	3.919956	8.86E-05	0.041554
ENSRNOG00000011824	Trh	247.3715	-2.67136	0.683507	-3.90831	9.29E-05	0.041554
ENSRNOG00000020485	Vav3	1317.465	-1.86878	0.475956	-3.92637	8.62E-05	0.041554
ENSRNOG00000026091	Slc10a4	98.70734	-2.86075	0.733925	-3.89787	9.7E-05	0.04218
ENSRNOG00000004889	Vangl2	360.6807	-1.16871	0.304594	-3.83695	0.000125	0.044303
ENSRNOG00000006146	Trim54	167.1473	2.737984	0.709031	3.861584	0.000113	0.044303
ENSRNOG00000006970	Ntn3	269.1672	0.939737	0.244728	3.839927	0.000123	0.044303
ENSRNOG00000017659	Hs3st2	401.2136	1.785493	0.465072	3.839176	0.000123	0.044303
ENSRNOG00000033261	Fam107a	39655.42	0.959723	0.250035	3.838351	0.000124	0.044303
ENSRNOG00000034228	Pik3c2g	34.04206	-1.96952	0.513004	-3.83918	0.000123	0.044303
ENSRNOG00000043410	Cfap300	172.7566	-1.25588	0.325085	-3.86323	0.000112	0.044303
ENSRNOG00000047393	Krt18	80.52144	-2.28045	0.59312	-3.84484	0.000121	0.044303
ENSRNOG00000047393	Krt18	80.52144	-2.28045	0.59312	-3.84484	0.000121	0.044303
ENSRNOG00000054157	Nadk2	6214.314	0.548425	0.143574	3.819792	0.000134	0.046445
ENSRNOG00000011503	Shb	315.9821	-0.78997	0.207439	-3.8082	0.00014	0.047618

Table A.16. Results of statistical analysis of the enrichment of gene sets in the human subiculum in the MDD vs. Control group, using KEGG sets, whose enrichment was assessed using normalized and log2-

transformed counts, using the function generally applicable functional enrichment analysis (GAGE; Experiment 1) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Set code and name	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Down					
hsa05010 Alzheimer's disease	3.49E-06	-4.11165	9.03E-13	2.75E-10	354
hsa05012 Parkinson's disease	3.84E-06	-4.01005	4.17E-12	6.34E-10	239
hsa05014 Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	2.34E-05	-3.81672	2.77E-11	2.71E-09	352
hsa05016 Huntington's disease	1.53E-05	-3.80574	3.57E-11	2.71E-09	296
hsa05020 Prion diseases	1.33E-05	-3.72127	1.02E-10	6.22E-09	258
hsa00190 Oxidative phosphorylation	0.000249	-2.85921	6.67E-07	3.38E-05	129
hsa04141 Protein processing in endoplasmic reticulum	0.002934	-2.54964	6.37E-06	0.000277	162
hsa04932 Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	0.00234	-2.50714	9.08E-06	0.00031	144
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	0.00216	-2.50317	9.18E-06	0.00031	147
hsa04144 Endocytosis	0.007204	-2.42309	1.45E-05	0.000442	247
hsa03050 Proteasome	0.013337	-2.20299	9.94E-05	0.002748	43
hsa05132 Salmonella infection	0.014806	-1.97907	0.000322	0.008158	242
hsa05203 Viral carcinogenesis	0.018831	-1.91241	0.00049	0.011113	191
hsa04720 Long-term potentiation	0.024275	-1.91014	0.000542	0.011113	66
hsa04120 Ubiquitin mediated proteolysis	0.017009	-1.90206	0.000548	0.011113	140
hsa04961 Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	0.03347	-1.79956	0.001047	0.019895	50
hsa04070 Phosphatidylinositol signaling system	0.036375	-1.75836	0.001247	0.021288	96
hsa03040 Spliceosome	0.027918	-1.75562	0.00126	0.021288	140
hsa03013 RNA transport	0.033042	-1.70589	0.001635	0.026161	176
hsa04140 Autophagy - animal	0.031896	-1.67827	0.001943	0.029152	135
hsa04730 Long-term depression	0.042124	-1.67146	0.002097	0.029152	57
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	0.038339	-1.65288	0.002189	0.029152	151
hsa05032 Morphine addiction	0.045436	-1.65123	0.002239	0.029152	90
hsa04728 Dopaminergic synapse	0.048628	-1.64251	0.002302	0.029152	127
hsa04150 mTOR signaling pathway	0.044761	-1.61578	0.002661	0.031557	150
hsa04725 Cholinergic synapse	0.030497	-1.6201	0.002699	0.031557	113
hsa04145 Phagosome	0.048536	-1.58089	0.003217	0.035162	133
hsa03020 RNA polymerase	0.04288	-1.62021	0.003239	0.035162	31
hsa04721 Synaptic vesicle cycle	0.056264	-1.5736	0.003387	0.035502	76
hsa04137 Mitophagy - animal	0.052555	-1.51325	0.004776	0.048395	66
hsa04724 Glutamatergic synapse	0.061127	-1.49279	0.00503	0.049327	112
Bidirected					
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	5.47E-07	4.815058	8.46E-17	2.57E-14	316
hsa05150 Staphylococcus aureus infection	0.004399	2.638553	4.39E-06	0.000533	52
hsa05332 Graft-versus-host disease	0.005939	2.688021	7.12E-06	0.000533	23
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	0.005856	2.5234	8.34E-06	0.000533	81
hsa04610 Complement and coagulation cascades	0.005084	2.510456	9.25E-06	0.000533	76
hsa05323 Rheumatoid arthritis	0.007059	2.479163	1.18E-05	0.000533	73
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0.007239	2.456054	1.23E-05	0.000533	135

hsa05330 Allograft rejection	0.007763	2.562593	1.4E-05	0.000534	25
hsa05144 Malaria	0.009431	2.357339	3.17E-05	0.000991	49
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0.010933	2.29777	3.64E-05	0.000991	255
hsa04940 Type I diabetes mellitus	0.010599	2.392429	3.9E-05	0.000991	29
hsa04020 Calcium signaling pathway	0.004718	2.296864	3.91E-05	0.000991	233
hsa04974 Protein digestion and absorption	0.011532	2.284009	4.39E-05	0.001027	99
hsa04672 Intestinal immune network for IgA production	0.012509	2.285432	5.88E-05	0.001277	38
hsa04512 ECM-receptor interaction	0.013643	2.217787	7.11E-05	0.001441	85
hsa04742 Taste transduction	0.017317	2.105414	0.000157	0.002976	67
hsa05140 Leishmaniasis	0.020341	2.038571	0.000246	0.004234	65
hsa05320 Autoimmune thyroid disease	0.021985	2.058808	0.000251	0.004234	41
hsa05322 Systemic lupus erythematosus	0.02584	1.934068	0.000438	0.007005	109
hsa05033 Nicotine addiction	0.029429	1.827891	0.000957	0.014083	40
hsa04145 Phagosome	0.035331	1.798504	0.000973	0.014083	133
hsa05143 African trypanosomiasis	0.03454	1.772496	0.001354	0.018706	34
hsa04950 Maturity onset diabetes of the young	0.04713	1.689918	0.002263	0.029905	20
hsa04612 Antigen processing and presentation	0.049501	1.63078	0.002755	0.034902	48
hsa05416 Viral myocarditis	0.054312	1.59989	0.00319	0.03879	48

Table A.17. Results of statistical analysis of the enrichment of gene sets in the hippocampus of rats in the CUS vs. Control group, using KEGG sets, whose enrichment was assessed using normalized and log2-transformed counts, using the function generally applicable functional enrichment analysis (GAGE; Experiment 1) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Set code and name	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Bidirected					
rno04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	5.28E-10	6.156581	7.78E-26	2.35E-23	308
rno04020 Calcium signaling pathway	1.25E-05	4.202168	3.23E-13	4.88E-11	228
rno04024 cAMP signaling pathway	0.001263	3.029862	9.48E-08	9.54E-06	204
rno04512 ECM-receptor interaction	0.001888	2.937281	2.72E-07	2.06E-05	83
rno04974 Protein digestion and absorption	0.003102	2.667433	2.68E-06	0.000162	88
rno04725 Cholinergic synapse	0.006011	2.517783	7.74E-06	0.00039	111
rno05205 Proteoglycans in cancer	0.007612	2.421101	1.5E-05	0.000647	196
rno05033 Nicotine addiction	0.007803	2.446016	1.88E-05	0.00071	40
rno04916 Melanogenesis	0.008593	2.376201	2.34E-05	0.000786	94
rno04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0.010273	2.284123	4.24E-05	0.001279	152
rno04360 Axon guidance	0.011027	2.25213	5.22E-05	0.001433	177
rno05217 Basal cell carcinoma	0.01534	2.175383	0.000103	0.002589	60
rno05144 Malaria	0.015083	2.163642	0.000116	0.002589	49
rno05032 Morphine addiction	0.012979	2.142934	0.00012	0.002589	91
rno04510 Focal adhesion	0.017356	2.07428	0.000173	0.003479	195
rno05332 Graft-versus-host disease	0.019409	2.084472	0.000198	0.00355	45
rno04151 PI3K-Akt signaling pathway	0.019848	2.043605	0.000206	0.00355	318
rno04713 Circadian entrainment	0.019103	2.05153	0.000212	0.00355	94
rno04550 Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	0.01962	2.031009	0.000236	0.003751	132
rno04911 Insulin secretion	0.022237	2.022297	0.000257	0.003877	79
rno04390 Hippo signaling pathway	0.021422	2.002419	0.000279	0.004011	152
rno05414 Dilated cardiomyopathy	0.023994	1.986874	0.000318	0.00437	92
rno04310 Wnt signaling pathway	0.025012	1.963281	0.000354	0.004654	156
rno04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0.025925	1.933765	0.000418	0.005081	232
rno05320 Autoimmune thyroid disease	0.02198	1.968404	0.000421	0.005081	51
rno04022 cGMP-PKG signaling pathway	0.026785	1.908573	0.000497	0.005768	161
rno04925 Aldosterone synthesis and secretion	0.028509	1.889699	0.000577	0.006458	91
rno05330 Allograft rejection	0.027437	1.89411	0.000639	0.006896	45
rno04726 Serotonergic synapse	0.031746	1.860567	0.000674	0.007018	109
rno04727 GABAergic synapse	0.031528	1.838824	0.000781	0.00785	90
rno04940 Type I diabetes mellitus	0.032171	1.846487	0.000806	0.00785	52
rno05416 Viral myocarditis	0.031327	1.831201	0.000845	0.007976	74
rno05030 Cocaine addiction	0.03501	1.810879	0.00102	0.009338	47
rno05224 Breast cancer	0.041262	1.739239	0.001347	0.011962	140
rno04724 Glutamatergic synapse	0.037539	1.726134	0.001475	0.012726	111
rno05031 Amphetamine addiction	0.040831	1.72049	0.001584	0.013286	66
rno04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0.04121	1.678254	0.0019	0.01551	144

rno04970 Salivary secretion	0.042116	1.676596	0.001989	0.015808	73
rno05150 Staphylococcus aureus infection	0.048764	1.665001	0.002084	0.016138	79
rno05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0.048405	1.652762	0.002221	0.016771	89
rno04270 Vascular smooth muscle contraction	0.047929	1.643108	0.002303	0.016962	128
rno04742 Taste transduction	0.051158	1.615624	0.002779	0.019985	59
rno04921 Oxytocin signaling pathway	0.056456	1.577427	0.003232	0.022696	149
rno04640 Hematopoietic cell lineage	0.056987	1.567807	0.003495	0.023981	80
rno04971 Gastric acid secretion	0.059906	1.562787	0.003573	0.023981	73
rno04750 Inflammatory mediator regulation of TRP channels	0.062593	1.539136	0.003975	0.025972	100
rno04371 Apelin signaling pathway	0.057528	1.534992	0.004042	0.025972	133
rno05143 African trypanosomiasis	0.055835	1.53999	0.004303	0.027074	37
rno04728 Dopaminergic synapse	0.050506	1.508809	0.004677	0.028825	129
rno00830 Retinol metabolism	0.062863	1.508464	0.00478	0.028872	64
rno04918 Thyroid hormone synthesis	0.066444	1.481413	0.00547	0.03239	71
rno04610 Complement and coagulation cascades	0.065628	1.461396	0.006011	0.034908	77
rno04015 Rap1 signaling pathway	0.075229	1.431529	0.006671	0.038014	204
rno04978 Mineral absorption	0.074575	1.429843	0.007033	0.039332	51
rno04014 Ras signaling pathway	0.080603	1.399161	0.007778	0.042707	218
rno05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	0.085488	1.371483	0.009061	0.048863	75
Upregulated					
rno03010 Ribosome	3.37E-06	3.863552	4.09E-11	1.24E-08	177
rno05140 Leishmaniasis	0.003861	2.615486	4.37E-06	0.00066	67
rno05145 Toxoplasmosis	0.008595	2.271695	4.98E-05	0.004193	103
rno05152 Tuberculosis	0.010626	2.244867	5.55E-05	0.004193	155
rno04380 Osteoclast differentiation	0.01247	2.153308	0.000108	0.006521	118
rno05323 Rheumatoid arthritis	0.017972	2.08107	0.000178	0.008984	78
rno00190 Oxidative phosphorylation	0.001352	2.04485	0.000354	0.015273	121
rno04217 Necroptosis	0.026044	1.866219	0.000654	0.023023	138
rno04621 NOD-like receptor signaling pathway	0.028717	1.855761	0.000686	0.023023	156
rno04066 HIF-1 signaling pathway	0.033375	1.778905	0.001104	0.033335	102
rno05310 Asthma	0.032838	1.781298	0.001521	0.041757	20
rno05020 Prion diseases	0.007176	1.699032	0.001784	0.042494	255
rno04145 Phagosome	0.046467	1.683126	0.001829	0.042494	161

Table A.18. Results of a statistical analysis of the enrichment of gene sets in the whole brain of zebrafish in the CUS vs. Control group, using KEGG sets, whose enrichment was assessed using normalized and log2-transformed counts, using the function generally applicable functional enrichment analysis (GAGE; Experiment 1) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Set code and name	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Bidirected					
dre04020 Calcium signaling pathway	0.004314	2.588289	1.32E-10	1.99E-08	330
dre04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0.005299	2.443404	1.35E-09	1.02E-07	220
dre04010 MAPK signaling pathway	0.003181	2.395348	2.57E-09	1.29E-07	381
dre04512 ECM-receptor interaction	0.006457	2.386706	3.79E-09	1.43E-07	97
dre04510 Focal adhesion	0.021531	1.956686	8.82E-07	2.66E-05	257
dre04912 GnRH signaling pathway	0.018279	1.90655	1.82E-06	4.57E-05	121
dre04920 Adipocytokine signaling pathway	0.028215	1.759246	9.83E-06	0.000203	89
dre04260 Cardiac muscle contraction	0.021	1.755792	1.07E-05	0.000203	134
dre04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0.047469	1.635956	3.28E-05	0.00055	148
dre00230 Purine metabolism	0.05792	1.505363	0.000119	0.001804	158
dre04620 Toll-like receptor signaling pathway	0.06692	1.478278	0.000157	0.002158	99
dre04371 Apelin signaling pathway	0.062956	1.45027	0.0002	0.002514	176
dre04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0.05287	1.178655	0.002056	0.02388	193
dre04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	0.106575	1.162578	0.00222	0.023941	468
Upregulated					
dre00190 Oxidative phosphorylation	2.42E-06	2.494845	2.63E-09	3.96E-07	140
dre01200 Carbon metabolism	0.010699	1.814885	5.59E-06	0.000422	136
dre00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0.022143	1.714605	1.72E-05	0.000864	80
dre03040 Spliceosome	0.001216	1.602476	5.5E-05	0.002075	140
dre04260 Cardiac muscle contraction	0.025117	1.466424	0.000203	0.006132	134
dre00071 Fatty acid degradation	0.044922	1.334714	0.000662	0.016652	52
dre00480 Glutathione metabolism	0.0483	1.190117	0.001936	0.041758	63
dre01212 Fatty acid metabolism	0.075775	1.1347	0.002967	0.047066	67
dre03410 Base excision repair	0.046291	1.161291	0.00311	0.047066	37
dre00983 Drug metabolism - other enzymes	0.068099	1.121606	0.003176	0.047066	83
dre00240 Pyrimidine metabolism	0.098205	1.101179	0.003751	0.047066	67
dre03460 Fanconi anemia pathway	0.097773	1.098324	0.004021	0.047066	49
dre00062 Fatty acid elongation	0.114173	1.096112	0.004052	0.047066	35
Downregulated					
dre04010 MAPK signaling pathway	0.000125	-2.07905	2.17E-07	3.28E-05	381
dre04620 Toll-like receptor signaling pathway	0.01601	-1.86209	3.23E-06	0.000225	99
dre04621 NOD-like receptor signaling pathway	0.017636	-1.82603	4.48E-06	0.000225	159
dre04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0.081285	-1.31752	0.000643	0.019971	193
dre04622 RIG-I-like receptor signaling pathway	0.062432	-1.32613	0.000661	0.019971	62

Table A.19. Results of the statistical analysis of the enrichment of gene sets in the combined MDD and CUS vs. pooled Control group, using KEGG sets, whose enrichment was assessed using normalized and log2-transformed counts using the function generally applicable functional enrichment analysis (GAGE;

Experiment 2) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Set code and name	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Bidirected					
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	6.43E-05	3.747224	7.93E-38	2.36E-35	199
hsa04020 Calcium signaling pathway	0.002036	2.756785	1.47E-21	2.18E-19	175
hsa04512 ECM-receptor interaction	0.0103	2.291673	2.86E-15	2.83E-13	60
hsa05414 Dilated cardiomyopathy	0.011529	2.175357	5.66E-14	4.21E-12	73
hsa04024 cAMP signaling pathway	0.014065	2.128332	1.14E-13	6.8E-12	164
hsa05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0.018104	2.042219	1.44E-12	7.13E-11	69
hsa04742 Taste transduction	0.031838	1.852065	1.53E-10	6.51E-09	37
hsa05033 Nicotine addiction	0.029919	1.83466	2.93E-10	1.09E-08	31
hsa05032 Morphine addiction	0.020663	1.793306	5.03E-10	1.66E-08	73
hsa04510 Focal adhesion	0.035082	1.751335	7.62E-10	2.26E-08	156
hsa04360 Axon guidance	0.028882	1.727033	1.36E-09	3.68E-08	145
hsa04724 Glutamatergic synapse	0.033114	1.689927	3.48E-09	8.61E-08	85
hsa04010 MAPK signaling pathway	0.035732	1.671304	3.96E-09	9.05E-08	223
hsa04725 Cholinergic synapse	0.037452	1.661053	5.86E-09	1.24E-07	92
hsa05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	0.047739	1.648319	7.74E-09	1.49E-07	59
hsa04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0.033242	1.643525	8.01E-09	1.49E-07	110
hsa05200 Pathways in cancer	0.038035	1.626444	9.4E-09	1.64E-07	374
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	0.042373	1.594397	1.83E-08	2.96E-07	242
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	0.043272	1.59675	1.9E-08	2.96E-07	118
hsa04713 Circadian entrainment	0.055321	1.511983	1.06E-07	1.57E-06	69
hsa04974 Protein digestion and absorption	0.054494	1.493315	1.56E-07	2.21E-06	63
hsa04925 Aldosterone synthesis and secretion	0.050952	1.484697	1.74E-07	2.35E-06	75
hsa04726 Serotonergic synapse	0.066804	1.471338	2.08E-07	2.69E-06	76
hsa05146 Amoebiasis	0.07315	1.429375	4.49E-07	5.55E-06	59
hsa04380 Osteoclast differentiation	0.076023	1.344395	1.86E-06	2.21E-05	83
hsa05030 Cocaine addiction	0.087137	1.316132	3.41E-06	3.89E-05	38
hsa04668 TNF signaling pathway	0.085639	1.305408	3.54E-06	3.89E-05	71
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0.070836	1.302955	3.82E-06	4.05E-05	83
hsa04610 Complement and coagulation cascades	0.052226	1.321515	4.09E-06	4.19E-05	46
hsa04727 GABAergic synapse	0.075184	1.29523	4.42E-06	4.38E-05	70
hsa05031 Amphetamine addiction	0.088336	1.26116	7.87E-06	7.54E-05	46
hsa04923 Regulation of lipolysis in adipocytes	0.093031	1.24333	1.04E-05	9.63E-05	45
hsa04015 Rap1 signaling pathway	0.105125	1.206869	1.52E-05	0.000135	162
hsa04728 Dopaminergic synapse	0.088897	1.207947	1.61E-05	0.000135	95
hsa04918 Thyroid hormone synthesis	0.107011	1.210822	1.62E-05	0.000135	54
hsa04933 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	0.098533	1.206712	1.64E-05	0.000135	71
hsa04913 Ovarian steroidogenesis	0.090988	1.208348	1.9E-05	0.000153	39
hsa05205 Proteoglycans in cancer	0.076901	1.19177	1.99E-05	0.000156	162
hsa04912 GnRH signaling pathway	0.078631	1.197353	2.05E-05	0.000156	65
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	0.097233	1.18653	2.14E-05	0.000159	107

hsa04917 Prolactin signaling pathway	0.093764	1.185497	2.42E-05	0.000166	58
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	0.092253	1.202767	2.43E-05	0.000166	23
hsa04924 Renin secretion	0.108886	1.183691	2.44E-05	0.000166	44
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0.113258	1.178033	2.46E-05	0.000166	72
hsa04976 Bile secretion	0.120613	1.162656	3.16E-05	0.000209	50
hsa05133 Pertussis	0.089438	1.144918	5.01E-05	0.000323	43
hsa04740 Olfactory transduction	0.11329	1.103163	9.38E-05	0.000593	25
hsa04390 Hippo signaling pathway	0.107835	1.054247	0.00014	0.00085	120
hsa05150 Staphylococcus aureus infection	0.103762	1.087561	0.00014	0.00085	22
hsa05144 Malaria	0.125834	1.062982	0.000155	0.000919	23
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	0.097371	1.043756	0.000165	0.000963	120
hsa04916 Melanogenesis	0.100434	1.044096	0.000173	0.000986	81
hsa04911 Insulin secretion	0.110966	1.013207	0.000253	0.001419	58
hsa04971 Gastric acid secretion	0.111337	0.99542	0.000328	0.001805	50
hsa04270 Vascular smooth muscle contraction	0.140633	0.979952	0.000368	0.001987	78
hsa04750 Inflammatory mediator regulation of TRP channels	0.143622	0.979324	0.000376	0.001992	62
hsa05418 Fluid shear stress and atherosclerosis	0.146413	0.965169	0.000434	0.002261	96
hsa04371 Apelin signaling pathway	0.159676	0.936328	0.000615	0.003149	100
hsa05320 Autoimmune thyroid disease	0.158784	0.982107	0.000647	0.003255	10
hsa04014 Ras signaling pathway	0.152909	0.928409	0.000668	0.003306	164
hsa04970 Salivary secretion	0.122053	0.923143	0.000801	0.003901	51
hsa04659 Th17 cell differentiation	0.150241	0.909645	0.000879	0.004208	60
hsa04260 Cardiac muscle contraction	0.14605	0.908278	0.000912	0.004298	56
hsa04550 Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	0.146366	0.901617	0.000938	0.004351	111
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	0.167786	0.896403	0.001001	0.004573	70
hsa04744 Phototransduction	0.085489	1.005784	0.001093	0.004917	19
hsa04540 Gap junction	0.172421	0.855701	0.001593	0.007061	70
hsa04310 Wnt signaling pathway	0.123629	0.834726	0.002038	0.008901	122
hsa00830 Retinol metabolism	0.17417	0.824523	0.002588	0.011141	25
hsa05204 Chemical carcinogenesis	0.185074	0.807223	0.003039	0.012893	20
hsa05202 Transcriptional misregulation in cancer	0.189504	0.790851	0.003151	0.012907	119
hsa04930 Type II diabetes mellitus	0.136246	0.802107	0.003158	0.012907	40
hsa04062 Chemokine signaling pathway	0.17057	0.791513	0.003172	0.012907	115
hsa02010 ABC transporters	0.199764	0.77908	0.003772	0.015139	30
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	0.173363	0.766497	0.004222	0.016718	50
hsa04611 Platelet activation	0.21025	0.750968	0.004752	0.018569	90
hsa04721 Synaptic vesicle cycle	0.174376	0.751912	0.004965	0.019151	54
hsa05416 Viral myocarditis	0.206648	0.751062	0.005139	0.019569	24
hsa04660 T cell receptor signaling pathway	0.220491	0.741125	0.005251	0.019743	73
hsa00910 Nitrogen metabolism	0.207374	0.741918	0.006424	0.023848	12
hsa05321 Inflammatory bowel disease (IBD)	0.194381	0.69712	0.008996	0.03274	23
hsa05222 Small cell lung cancer	0.225411	0.685255	0.009039	0.03274	72
hsa05224 Breast cancer	0.202341	0.68059	0.009421	0.033711	118
hsa05140 Leishmaniasis	0.203921	0.668531	0.010979	0.038817	42
hsa04915 Estrogen signaling pathway	0.210616	0.645201	0.013004	0.045357	83
hsa05161 Hepatitis B	0.221626	0.642686	0.013202	0.045357	118

hsa05217 Basal cell carcinoma	0.162746	0.649796	0.013348	0.045357	55
hsa05166 HTLV-I infection	0.242782	0.639881	0.013439	0.045357	158
Upregulated					
hsa00071 Fatty acid degradation	0.07651	1.073767	0.000142	0.023071	32
hsa00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0.071185	1.067887	0.000155	0.023071	45
Downregulated					
hsa05032 Morphine addiction	0.041747	-1.06461	0.000138	0.041101	73

Table A.20. Results of statistical analysis of differential gene expression in the human subiculum in the MDD vs. Control group using only 1:1:1 orthologous genes between human, rat and *Danio rerio*, using the Negative Binomial (Gamma-Poisson) distribution to determine factor sizes, variance, generate negative binomial generalized linear models and Wald statistics using the function DESeq (Experiment 3) [373, 482]. P-value and FDR are set to 0.05.

Name	**baseMean**	**log2FoldChange**	**lfcSE**	**stat**	**pvalue**	**padj**
TRHDE	2464.401	-1.33853	0.250472	-5.34405	9.09E-08	0.000864
VWF	838.6989	0.857176	0.171901	4.986457	6.15E-07	0.002924
APBA2	137.3063	-2.26438	0.479413	-4.72323	2.32E-06	0.005564
ELAVL2	4350.698	-1.01495	0.214962	-4.72156	2.34E-06	0.005564
NEUROD6	4729.525	-1.16977	0.269735	-4.33673	1.45E-05	0.023136
LENG1	16.44758	-5.44315	1.255718	-4.33469	1.46E-05	0.023136
STMN2	23897.14	-0.63013	0.151397	-4.16208	3.15E-05	0.030895
FAM102B	4352.728	-0.62967	0.149692	-4.20645	2.59E-05	0.030895
KIF19	87.06534	1.546379	0.372146	4.155296	3.25E-05	0.030895
PTPRB	2267.339	0.656183	0.157768	4.159176	3.19E-05	0.030895
FABP3	3154.604	-0.86153	0.210791	-4.08714	4.37E-05	0.035749
SUCLG2	725.5435	0.648311	0.159644	4.060975	4.89E-05	0.035749
SLC39A10	8477.13	-0.54222	0.133074	-4.07455	4.61E-05	0.035749
PARP9	704.5983	0.763285	0.190791	4.00064	6.32E-05	0.042911
IFI44	625.3891	0.783843	0.197873	3.961346	7.45E-05	0.047251

Table A.21. Results of statistical analysis of differential gene expression in the hippocampus of rats in the CUS vs. Control group using only 1:1:1 orthologous genes between human, rat and zebrafish, using the Negative Binomial (Gamma-Poisson) distribution to determine factor sizes, variance, generate negative binomial generalized linear models and Wald statistics using the function DESeq (Experiment 3) [373, 482]. P-value and FDR are set to 0.05.

Name	**baseMean**	**log2FoldChange**	**lfcSE**	**stat**	**pvalue**	**padj**
HGF	404.1687	1.895295	0.27399	6.917389	4.6E-12	4.56E-08
FEZF2	894.0668	1.017009	0.160627	6.331481	2.43E-10	1.2E-06
TTC22	397.1618	1.666487	0.311176	5.355447	8.53E-08	0.000282
TP53BP2	5699.253	1.219034	0.234365	5.201431	1.98E-07	0.00049
KCNS1	297.6239	1.432952	0.303183	4.726361	2.29E-06	0.004529
OVOL2	49.41324	4.594552	0.988002	4.650346	3.31E-06	0.005471
HMGCS1	19775.1	0.769573	0.169208	4.548085	5.41E-06	0.007661
PPL	553.8464	-3.68711	0.820857	-4.49179	7.06E-06	0.008745

SLC5A7	297.6599	-2.70201	0.605174	-4.46485	8.01E-06	0.008819
HDC	397.5538	-4.0302	0.913243	-4.41306	1.02E-05	0.010096
USH2A	53.559	-1.8748	0.434595	-4.3139	1.6E-05	0.012222
RSPH10B	857.4857	-1.7044	0.393796	-4.32814	1.5E-05	0.012222
RSPH10B2	857.4857	-1.7044	0.393796	-4.32814	1.5E-05	0.012222
LDLR	1373.883	-0.75762	0.176533	-4.29167	1.77E-05	0.012548
RPE65	171.3564	-1.46829	0.35072	-4.1865	2.83E-05	0.018545
PIK3C2B	910.9034	-0.81143	0.19441	-4.17382	3E-05	0.018545
NADK2	6227.18	0.559755	0.134872	4.15028	3.32E-05	0.01935
FCHO2	3209.427	0.641262	0.155073	4.135236	3.55E-05	0.019514
TCEA2	6189.194	0.658331	0.161734	4.070461	4.69E-05	0.024463
ROBO3	784.5646	-3.0085	0.745855	-4.03363	5.49E-05	0.025907
VAV3	1312.649	-1.86314	0.461333	-4.0386	5.38E-05	0.025907
THRB	2458.737	1.334263	0.334114	3.993437	6.51E-05	0.028515
FAM101B	162.4399	-1.12712	0.282521	-3.98952	6.62E-05	0.028515
CPLX3	292.824	2.440444	0.61704	3.955083	7.65E-05	0.02915
SLC7A11	4068.756	0.536608	0.135153	3.970372	7.18E-05	0.02915
IGFN1	64.61423	2.076292	0.524425	3.959179	7.52E-05	0.02915
VANGL2	360.2331	-1.15621	0.304274	-3.79989	0.000145	0.049447
PHACTR3	10433.5	0.688542	0.180439	3.815924	0.000136	0.049447
MFRP	138.3103	-3.23802	0.851087	-3.80457	0.000142	0.049447

Table A.22. Results of statistical analysis of differential gene expression in the whole brain of *Danio rerio* in the CUS vs. Control group using only 1:1:1 orthologous genes between human, rat, and zebrafish, using the Negative Binomial (Gamma-Poisson) distribution to determine factor sizes, variance, generate negative binomial generalized linear models and Wald statistics using the function DESeq (Experiment 3) [373, 482]. P-value and FDR are set to 0.05.

Name	**baseMean**	**log2FoldChange**	**lfcSE**	**stat**	**pvalue**	**padj**
CBS	1373.633	-1.12835	0.164931	-6.84132	7.85E-12	4.03E-08
LOC102724560	1373.633	-1.12835	0.164931	-6.84132	7.85E-12	4.03E-08
TAPBP	164.2932	-1.79661	0.317186	-5.66421	1.48E-08	5.06E-05
SOCS3	314.5642	-2.29253	0.435013	-5.27004	1.36E-07	0.000351
CCR9	56.59636	-2.79566	0.554845	-5.03863	4.69E-07	0.000964
MYH4	258.5984	3.323343	0.709557	4.683685	2.82E-06	0.004829
THEMIS	17.14337	-1.83225	0.397957	-4.60414	4.14E-06	0.006085
TTF2	178.6828	-0.68797	0.150573	-4.56902	4.9E-06	0.006299
STAT4	36.67781	-1.59845	0.364297	-4.38778	1.15E-05	0.010946
MYH6	19.15213	-5.21277	1.187409	-4.39004	1.13E-05	0.010946
HMHA1	126.6126	-1.07557	0.245398	-4.38296	1.17E-05	0.010946
IQCE	417.4338	0.839114	0.194836	4.306767	1.66E-05	0.014117
MARCO	219.1724	-2.25995	0.528794	-4.27378	1.92E-05	0.014117
TBC1D10C	46.85412	-1.21312	0.283688	-4.27626	1.9E-05	0.014117
GNGT1	156.3481	-4.61752	1.093479	-4.22278	2.41E-05	0.01551
GMIP	52.35498	-1.07836	0.254683	-4.23413	2.29E-05	0.01551
ELF1	172.8876	-0.74862	0.179926	-4.16072	3.17E-05	0.017064

TAGAP	108.7985	-1.68608	0.404148	-4.17193	3.02E-05	0.017064
C4A	226.9903	-2.21315	0.533233	-4.15043	3.32E-05	0.017064
C4B	226.9903	-2.21315	0.533233	-4.15043	3.32E-05	0.017064
AP1M1	53.98701	-1.23875	0.301151	-4.1134	3.9E-05	0.019093
CEBPD	330.8055	-2.64475	0.646564	-4.09048	4.3E-05	0.019249
CAPG	55.92728	-1.16564	0.284259	-4.10063	4.12E-05	0.019249
SRR	22.26485	1.843807	0.453925	4.061918	4.87E-05	0.020856
C1orf158	34.69932	1.533384	0.378823	4.047754	5.17E-05	0.021272
SOCS1	66.27568	-1.74214	0.434759	-4.00715	6.15E-05	0.023338
LRIT1	29.5476	-1.49938	0.375628	-3.99165	6.56E-05	0.023338
GRN	462.8873	-0.9894	0.246331	-4.01654	5.91E-05	0.023338
BCL10	18.78615	-1.46481	0.367033	-3.99095	6.58E-05	0.023338
RDH5	27.74743	-3.85398	0.973009	-3.96089	7.47E-05	0.023997
RPAP1	260.3229	-0.6462	0.162521	-3.9761	7.01E-05	0.023997
LTB4R	36.54535	-1.56635	0.394873	-3.96671	7.29E-05	0.023997
LCK	21.17211	-1.98351	0.503234	-3.94152	8.1E-05	0.025233
JAKMIP3	1017.44	0.881741	0.225268	3.91419	9.07E-05	0.027437
TMEM129	265.5617	0.490474	0.12581	3.898534	9.68E-05	0.028436
GPR183	21.22254	-1.58352	0.407132	-3.88944	0.0001	0.028702
IL21R	67.83947	-1.30991	0.337564	-3.88048	0.000104	0.028976
INPP5D	120.971	-1.13115	0.294056	-3.84672	0.00012	0.032397
NPM1	438.6385	-0.43264	0.114254	-3.78662	0.000153	0.035353
POLR3E	636.9908	0.723905	0.191083	3.788444	0.000152	0.035353
CDH17	66.11075	4.632365	1.226162	3.777938	0.000158	0.035353
PTPRC	384.383	-1.11542	0.293817	-3.79631	0.000147	0.035353
JAK3	54.23865	-1.23074	0.322407	-3.81736	0.000135	0.035353
INPP5K	46.40485	-2.27796	0.602304	-3.78207	0.000156	0.035353
CNPY2	149.4071	0.724139	0.191647	3.778497	0.000158	0.035353
SAG	41.19081	-4.07355	1.072016	-3.7999	0.000145	0.035353
MTMR1	304.7362	0.633281	0.168459	3.759255	0.00017	0.037289
ZAP70	36.76595	-1.43135	0.381875	-3.74821	0.000178	0.03738
TNIP2	13.41921	-1.84403	0.49148	-3.752	0.000175	0.03738
FOSL1	61.16041	-1.45478	0.391125	-3.71947	0.0002	0.039933
ROR1	41.99598	-1.01654	0.273514	-3.71661	0.000202	0.039933
DHX58	85.19354	-3.31629	0.892052	-3.71759	0.000201	0.039933
CYP1A1	26.7201	3.443234	0.932283	3.693337	0.000221	0.042194
TPD52L2	1790.857	0.378175	0.102645	3.684304	0.000229	0.042194
MAD1L1	138.1593	-0.60458	0.164116	-3.68383	0.00023	0.042194
CRH	571.7543	0.593343	0.160978	3.685869	0.000228	0.042194
NPTX1	5347.391	0.368046	0.100279	3.670221	0.000242	0.043723
CPEB1	55.62308	1.039557	0.285336	3.643278	0.000269	0.046921
DNAJB1	27.47223	-0.87949	0.24121	-3.64614	0.000266	0.046921
PPP1R1C	919.5042	0.932417	0.257008	3.627964	0.000286	0.04816
XAF1	104.8072	-2.12535	0.585671	-3.62892	0.000285	0.04816
SLA	13.72092	-1.86999	0.516322	-3.62176	0.000293	0.048535

Table A.23. The results of Fisher's statistical meta-analysis, based on the differential gene expression data for human MDD (Table A.20), rat CUS (Table A.21), and CUS *Danio rerio* (Table A.22) vs. control groups using only 1:1:1 orthologous genes between human, rat, and zebrafish, using the metaRNASeq R package [373, 377]. P-value and FDR are set to 0.05. DE (TRUE) - genes differentially expressed in any of the intraspecific studies, DE (FALSE) - not detected as a differentially expressed gene, l2fc (+) - genes have a unidirectional change in expression in all three species in the experimental groups relative to the control groups, l2fc (-) - genes have different changes in expression in different species in the experimental groups relative to the control groups

Name	fishcomb.TestStatistic	fishcomb.rawpval	fishcomb.adjpval	DE	L2fc
CBS	59.74788832	5.06432E-11	1.74753E-07	TRUE	-
LOC102724560	60.83906421	3.0393E-11	1.74753E-07	TRUE	-
HGF	59.87689827	4.7678E-11	1.74753E-07	TRUE	-
TP53BP2	48.8161146	8.11522E-09	2.10022E-05	TRUE	-
FEZF2	48.13837725	1.10873E-08	2.29551E-05	TRUE	+
TAPBP	40.49993901	3.63243E-07	0.000626715	TRUE	-
TTC22	37.22402462	1.59238E-06	0.002354908	TRUE	+
TRHDE	35.82478145	2.98142E-06	0.003857955	TRUE	-
SUCLG2	35.03968139	4.23388E-06	0.004869905	TRUE	+
CCR9	34.57980169	5.19733E-06	0.005380279	TRUE	-
XAF1	33.97108634	6.81444E-06	0.006413004	TRUE	-
SOCS3	33.42120484	8.69955E-06	0.006902547	TRUE	+
PTPN3	33.26228091	9.33497E-06	0.006902547	FALSE	-
PPL	33.3502467	8.97778E-06	0.006902547	TRUE	+
VWF	32.87587228	1.10785E-05	0.007645644	TRUE	+
HMGCS1	32.72868894	1.18244E-05	0.007650407	TRUE	-
MYH4	31.31394572	2.20794E-05	0.01344507	TRUE	+
RPE65	30.92033756	2.62526E-05	0.013588353	TRUE	-
HMHA1	30.92224017	2.62307E-05	0.013588353	TRUE	-
SMARCD2	30.9279381	2.61651E-05	0.013588353	FALSE	-
PARP14	30.24006807	3.53853E-05	0.017443259	FALSE	-
THEMIS	25.36746459	4.24355E-05	0.019967845	TRUE	-
LDLR	29.47665108	4.94155E-05	0.022241283	TRUE	+
SLC5A7	24.6673321	5.86822E-05	0.025311594	TRUE	-
TBC1D10C	24.55151455	6.19107E-05	0.025635979	TRUE	-
TGM2	28.55042073	7.39872E-05	0.027734576	FALSE	+
APBA2	28.06170757	9.14814E-05	0.027734576	TRUE	-
TCEA2	28.12627619	8.89544E-05	0.027734576	TRUE	-
ELAVL2	28.37024832	8.00138E-05	0.027734576	TRUE	-
STMN2	28.46883519	7.66584E-05	0.027734576	TRUE	-
TTF2	28.1297397	8.88208E-05	0.027734576	TRUE	-
ARHGAP25	27.93975327	9.64495E-05	0.027734576	FALSE	-
TRIM54	27.94320845	9.63051E-05	0.027734576	FALSE	-
PIK3C2B	28.25286739	8.41986E-05	0.027734576	TRUE	-
TMEM97	28.32463944	8.16148E-05	0.027734576	FALSE	-
MFRP	24.23969556	7.15065E-05	0.027734576	TRUE	-
THRB	27.78313312	0.000103222	0.028183229	TRUE	-
KIF19	27.77794474	0.000103455	0.028183229	TRUE	-

INPP5D	27.70022303	0.000106996	0.028400566	TRUE	-
GNGT1	23.19002013	0.000116024	0.02901769	TRUE	-
CD53	27.4542457	0.000119012	0.02901769	FALSE	-
USH2A	27.58155305	0.000112635	0.02901769	TRUE	+
OVOL2	27.42486474	0.000120533	0.02901769	TRUE	+
TIFA	27.21628694	0.000131901	0.029465748	FALSE	-
FAN1	27.12419136	0.000137252	0.029465748	FALSE	-
C4A	22.78985784	0.000139473	0.029465748	TRUE	-
C4B	22.78985784	0.000139473	0.029465748	TRUE	-
KCNS1	27.28813898	0.00012787	0.029465748	TRUE	-
JAKMIP3	27.21143796	0.000132178	0.029465748	TRUE	-
FABP3	26.91482584	0.000150226	0.031102701	TRUE	-
TMEM72	26.81720228	0.000156682	0.031803369	FALSE	-
SLC39A10	26.73719811	0.000162177	0.032285644	TRUE	-
CEBPD	26.61426488	0.000170993	0.03277993	TRUE	-
C1QTNF7	26.61459442	0.000170968	0.03277993	FALSE	+
THRA	26.48613238	0.000180685	0.034008192	FALSE	-
IFI44	26.33327138	0.000192959	0.035669832	TRUE	+
MYH6	25.96315727	0.000226188	0.041078997	TRUE	-
MPEG1	25.80573566	0.000241978	0.042492558	FALSE	-
FCHO2	25.79174096	0.000243433	0.042492558	TRUE	+
COLEC12	25.76454024	0.000246286	0.042492558	FALSE	-
FKBP4	25.62893011	0.00026101	0.04429461	FALSE	+
ELF1	25.44852015	0.00028195	0.047076497	TRUE	-
GAPDH	25.33934258	0.000295417	0.048542206	FALSE	-
NEUROD6	25.29831383	0.000300641	0.048576121	TRUE	-
FAM101B	25.26453979	0.000305008	0.048576121	TRUE	-
PDE6B	25.20456039	0.00031292	0.049081062	FALSE	-

Table A.24. Results of statistical analysis of the enrichment of gene sets in the MDD subiculum vs. Control group using 1:1:1 orthologous genes of human, rat, and *Danio rerio*, using KEGG sets, the enrichment of which was assessed using normalized and log2-transformed counts, using the function of the generally applicable analysis of enrichment for functional belonging (GAGE; Experiment 3) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Set code and name	**p.geomean**	**stat.mean**	**p.val**	**q.val**	**set.size**
Bidirected					
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	4.53E-07	4.95713	1.95E-17	5.77E-15	190
hsa04512 ECM-receptor interaction	0.003851	2.701489	2.27E-06	0.000336	59
hsa04020 Calcium signaling pathway	0.003799	2.405548	1.85E-05	0.001821	171
hsa04974 Protein digestion and absorption	0.012619	2.266103	5.46E-05	0.003848	60
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0.011982	2.237656	6.5E-05	0.003848	78
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	0.01561	2.143248	0.000108	0.005084	238
hsa04610 Complement and coagulation cascades	0.013341	2.174333	0.00012	0.005084	39
hsa05150 Staphylococcus aureus infection	0.02048	2.128722	0.000239	0.008842	16

hsa04742 Taste transduction	0.025507	1.943042	0.000493	0.014988	36
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	0.026864	1.959298	0.000506	0.014988	22
hsa05033 Nicotine addiction	0.029813	1.845318	0.000932	0.025066	31
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0.040335	1.75408	0.001294	0.031909	71
hsa04950 Maturity onset diabetes of the young	0.043401	1.754742	0.001714	0.039023	17
Downregulated					
hsa05010 Alzheimer's disease	0.000337	-3.1049	4.82E-08	1.43E-05	263
hsa05016 Huntington's disease	0.000521	-2.98741	1.5E-07	1.71E-05	216
hsa05012 Parkinson's disease	0.000524	-2.95978	2.05E-07	1.71E-05	176
hsa05014 Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	0.000624	-2.93608	2.32E-07	1.71E-05	241
hsa05020 Prion diseases	0.000478	-2.91884	2.89E-07	1.71E-05	197
hsa00190 Oxidative phosphorylation	0.00215	-2.26604	6.64E-05	0.003277	93
hsa03050 Proteasome	0.016946	-2.14893	0.000142	0.006008	39
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	0.010977	-1.99861	0.000306	0.01132	120
hsa04961 Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	0.021919	-1.80017	0.001225	0.040292	39

Table A.25. Results of statistical analysis of the enrichment of gene sets in the hippocampus of CUS rats vs. Control group using 1:1:1 orthologous genes of human, rat, and zebrafish, using KEGG sets, the enrichment of which was assessed using normalized and log2-transformed counts, using the function of the generally applicable analysis of enrichment for functional belonging (GAGE; Experiment 3) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Set code and name	**p.geomean**	**stat.mean**	**p.val**	**q.val**	**set.size**
Bidirected					
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	4.96E-08	5.383944	5.39E-20	1.59E-17	192
hsa04020 Calcium signaling pathway	3.35E-05	4.022018	3.27E-12	4.82E-10	171
hsa05205 Proteoglycans in cancer	0.003178	2.735122	1.29E-06	0.000127	157
hsa05200 Pathways in cancer	0.003917	2.654317	2.28E-06	0.000161	369
hsa04024 cAMP signaling pathway	0.004133	2.644801	2.73E-06	0.000161	161
hsa04512 ECM-receptor interaction	0.004598	2.647103	3.36E-06	0.000165	58
hsa04916 Melanogenesis	0.005195	2.566598	6.02E-06	0.000254	79
hsa04310 Wnt signaling pathway	0.007975	2.423094	1.57E-05	0.00058	119
hsa05414 Dilated cardiomyopathy	0.008904	2.392839	2.14E-05	0.0007	73
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	0.011949	2.270973	4.69E-05	0.001384	115
hsa04725 Cholinergic synapse	0.011551	2.250127	5.71E-05	0.001418	92
hsa04360 Axon guidance	0.01163	2.232943	6.07E-05	0.001418	145
hsa05217 Basal cell carcinoma	0.01201	2.259081	6.25E-05	0.001418	53
hsa05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0.016679	2.147487	0.000117	0.002472	69
hsa04510 Focal adhesion	0.017245	2.103377	0.000144	0.002782	154
hsa04974 Protein digestion and absorption	0.013719	2.123501	0.000151	0.002782	59
hsa04390 Hippo signaling pathway	0.01789	2.084749	0.000168	0.002917	118
hsa04550 Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	0.018952	2.070649	0.000186	0.003049	106
hsa04925 Aldosterone synthesis and secretion	0.020185	2.045159	0.000226	0.003516	73
hsa04970 Salivary secretion	0.019625	2.013314	0.000302	0.00446	49

hsa05033 Nicotine addiction	0.025544	1.973838	0.000422	0.005931	31
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	0.031389	1.853605	0.000681	0.008866	238
hsa04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0.031241	1.856926	0.000691	0.008866	110
hsa04713 Circadian entrainment	0.030422	1.854979	0.00073	0.00897	68
hsa04742 Taste transduction	0.035699	1.824367	0.000934	0.011021	37
hsa05031 Amphetamine addiction	0.038772	1.774578	0.00121	0.013731	46
hsa04971 Gastric acid secretion	0.042327	1.737823	0.001456	0.01544	49
hsa04015 Rap1 signaling pathway	0.041897	1.72349	0.001465	0.01544	160
hsa05224 Breast cancer	0.040842	1.716937	0.001547	0.015741	115
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0.044372	1.699749	0.001728	0.016996	77
hsa04728 Dopaminergic synapse	0.041237	1.65509	0.002214	0.021072	95
hsa04740 Olfactory transduction	0.04637	1.669576	0.002439	0.021882	23
hsa04911 Insulin secretion	0.051882	1.636751	0.002477	0.021882	56
hsa05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	0.053253	1.62741	0.002591	0.021882	59
hsa05032 Morphine addiction	0.046565	1.62697	0.002596	0.021882	73
hsa04270 Vascular smooth muscle contraction	0.052136	1.619054	0.002688	0.022029	77
hsa04724 Glutamatergic synapse	0.056356	1.556455	0.003683	0.029366	85
hsa05030 Cocaine addiction	0.061718	1.562645	0.003826	0.029704	38
hsa05202 Transcriptional misregulation in cancer	0.062474	1.496723	0.004926	0.03726	114
Upregulated					
hsa03010 Ribosome	0.000541	2.842556	1.06E-06	0.000312	93
hsa05140 Leishmaniasis	0.015542	2.173171	0.000114	0.016805	40
hsa05145 Toxoplasmosis	0.01901	2.016395	0.000283	0.027796	66

Table A.26. Results of a statistical analysis of the enrichment of gene sets in the whole brain CUS *Danio rerio* vs. Control group using 1:1:1 orthologous genes of human, rat, and zebrafish, using KEGG sets, the enrichment of which was assessed using normalized and log2-transformed counts, using the function of the generally applicable analysis of enrichment for functional belonging (GAGE; Experiment 3) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Set code and name	p.geomean	stat.mean	p.val	q.val	set.size
Bidirected					
hsa05414 Dilated cardiomyopathy	0.004006	2.641433	1.01E-10	2.19E-08	73
hsa05032 Morphine addiction	0.003268	2.618746	1.7E-10	2.19E-08	73
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	0.005036	2.559949	2.21E-10	2.19E-08	199
hsa05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0.007766	2.429903	2.27E-09	1.69E-07	69
hsa04024 cAMP signaling pathway	0.013014	2.162309	6.92E-08	4.11E-06	164
hsa04020 Calcium signaling pathway	0.017887	2.094285	1.62E-07	6.9E-06	175
hsa04724 Glutamatergic synapse	0.012755	2.115018	1.63E-07	6.9E-06	85
hsa04512 ECM-receptor interaction	0.019121	2.018571	5.42E-07	2.01E-05	60
hsa04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	0.023224	1.935474	1.26E-06	3.79E-05	110
hsa04010 MAPK signaling pathway	0.018283	1.928344	1.28E-06	3.79E-05	223
hsa04510 Focal adhesion	0.027651	1.879222	2.29E-06	6.18E-05	156
hsa04742 Taste transduction	0.030154	1.879279	3.21E-06	7.94E-05	37
hsa05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	0.030375	1.852914	3.61E-06	8.25E-05	59
hsa04380 Osteoclast differentiation	0.030327	1.839168	3.94E-06	8.37E-05	83
hsa04727 GABAergic synapse	0.027039	1.839619	4.29E-06	8.5E-05	70
hsa04912 GnRH signaling pathway	0.027123	1.815523	5.74E-06	0.000106	65
hsa04917 Prolactin signaling pathway	0.034688	1.754358	1.1E-05	0.000192	58
hsa05033 Nicotine addiction	0.034844	1.744305	1.53E-05	0.000253	31
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	0.025	1.699717	1.87E-05	0.000292	120
hsa04360 Axon guidance	0.032668	1.686751	1.98E-05	0.000294	145
hsa04713 Circadian entrainment	0.04079	1.670769	2.57E-05	0.000364	69
hsa05146 Amoebiasis	0.048949	1.632643	3.71E-05	0.0005	59
hsa04659 Th17 cell differentiation	0.054352	1.606018	4.76E-05	0.000614	60
hsa04930 Type II diabetes mellitus	0.04567	1.594037	6.25E-05	0.000765	40
hsa04913 Ovarian steroidogenesis	0.056635	1.585977	6.44E-05	0.000765	39
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	0.056157	1.538202	8.82E-05	0.000987	118
hsa04668 TNF signaling pathway	0.059471	1.54041	8.97E-05	0.000987	71
hsa05133 Pertussis	0.042552	1.538207	0.000118	0.001254	43
hsa04725 Cholinergic synapse	0.054533	1.500017	0.000133	0.001364	92
hsa04726 Serotonergic synapse	0.062552	1.49424	0.000141	0.001395	76
hsa04610 Complement and coagulation cascades	0.032983	1.513534	0.00016	0.001535	46
hsa04740 Olfactory transduction	0.059184	1.492518	0.000194	0.001805	24
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	0.078117	1.403228	0.000328	0.00295	50
hsa04933 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	0.075228	1.374358	0.000414	0.003613	71
hsa04728 Dopaminergic synapse	0.068932	1.370059	0.000428	0.00363	95
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	0.074252	1.350229	0.000499	0.004077	107
hsa04923 Regulation of lipolysis in adipocytes	0.078945	1.356623	0.000508	0.004077	45

hsa00604 Glycosphingolipid biosynthesis - ganglio series	0.058034	1.398154	0.000598	0.004676	13
hsa04925 Aldosterone synthesis and secretion	0.071949	1.323342	0.000647	0.004929	75
hsa04260 Cardiac muscle contraction	0.077302	1.321452	0.000683	0.005072	56
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	0.090608	1.30384	0.000878	0.006361	23
hsa04730 Long-term depression	0.083144	1.285332	0.000933	0.006597	42
hsa00230 Purine metabolism	0.090769	1.270444	0.000977	0.006745	105
hsa05321 Inflammatory bowel disease (IBD)	0.094583	1.276452	0.001093	0.007335	23
hsa05162 Measles	0.091061	1.256781	0.001111	0.007335	83
hsa04630 Jak-STAT signaling pathway	0.092048	1.249675	0.00118	0.00762	73
hsa05145 Toxoplasmosis	0.108654	1.214563	0.001538	0.009721	70
hsa05418 Fluid shear stress and atherosclerosis	0.10953	1.190996	0.001831	0.011327	96
hsa04924 Renin secretion	0.104251	1.186261	0.002022	0.012255	44
hsa05030 Cocaine addiction	0.109751	1.177717	0.002165	0.01286	38
hsa04914 Progesterone-mediated oocyte maturation	0.113577	1.106904	0.003509	0.020426	78
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	0.124369	1.104028	0.003576	0.020426	70
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	0.095503	1.096051	0.003718	0.020837	242
hsa04066 HIF-1 signaling pathway	0.137025	1.070691	0.004504	0.024772	78
hsa04015 Rap1 signaling pathway	0.141647	1.058095	0.004839	0.026132	162
hsa04911 Insulin secretion	0.110804	1.059492	0.005043	0.026744	58
hsa05161 Hepatitis B	0.140602	1.050694	0.005133	0.026747	118
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0.151312	1.025071	0.006188	0.031686	71
hsa04974 Protein digestion and absorption	0.124905	1.023798	0.006466	0.03255	63
hsa04371 Apelin signaling pathway	0.141862	1.012356	0.006764	0.033311	100
hsa00250 Alanine, aspartate and glutamate metabolism	0.14214	1.019662	0.006842	0.033311	31
hsa04976 Bile secretion	0.158373	1.001103	0.00737	0.035303	50
hsa05200 Pathways in cancer	0.137308	0.973487	0.008615	0.040611	374
hsa04918 Thyroid hormone synthesis	0.161346	0.969912	0.009092	0.041849	54
hsa04540 Gap junction	0.13844	0.968447	0.009188	0.041849	69
hsa04062 Chemokine signaling pathway	0.130343	0.965753	0.0093	0.041849	115
hsa04931 Insulin resistance	0.122016	0.962011	0.009616	0.042626	84
hsa04620 Toll-like receptor signaling pathway	0.166371	0.957473	0.00982	0.04289	55
hsa05212 Pancreatic cancer	0.150904	0.954291	0.010034	0.043189	66
hsa04660 T cell receptor signaling pathway	0.16839	0.946175	0.01047	0.044421	73
hsa05166 HTLV-I infection	0.172082	0.939943	0.010759	0.045008	158
hsa05221 Acute myeloid leukemia	0.160312	0.932233	0.011668	0.048129	52
Upregulated					
hsa00190 Oxidative phosphorylation	3.3E-05	2.024304	1.76E-06	0.000521	93
hsa01200 Carbon metabolism	0.029977	1.475358	0.000179	0.020542	100
hsa00010 Glycolysis / Gluconeogenesis	0.046397	1.46836	0.000207	0.020542	45
Downregulated					
hsa04380 Osteoclast differentiation	0.016547	-1.8477	3.95E-06	0.000779	83
hsa04659 Th17 cell differentiation	0.018426	-1.82853	5.24E-06	0.000779	60
hsa05032 Morphine addiction	0.007228	-1.68652	2.48E-05	0.002452	73
hsa04062 Chemokine signaling pathway	0.03853	-1.57102	6.7E-05	0.00417	115
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	0.041076	-1.55303	8.89E-05	0.00417	50
hsa04010 MAPK signaling pathway	0.003573	-1.52863	0.000101	0.00417	223

hsa04724 Glutamatergic synapse	0.01262	-1.54118	0.000106	0.00417	85
hsa05133 Pertussis	0.051107	-1.53122	0.000115	0.00417	43
hsa05168 Herpes simplex infection	0.030878	-1.50251	0.00014	0.00417	90
hsa04064 NF-kappa B signaling pathway	0.053472	-1.49877	0.00014	0.00417	61
hsa05162 Measles	0.030618	-1.47929	0.000174	0.004627	83
hsa04668 TNF signaling pathway	0.033729	-1.47285	0.000187	0.004627	71
hsa04660 T cell receptor signaling pathway	0.058261	-1.38726	0.000376	0.0086	73
hsa05340 Primary immunodeficiency	0.027182	-1.45371	0.000439	0.009304	21
hsa04713 Circadian entrainment	0.037009	-1.34787	0.000561	0.011101	69
hsa04630 Jak-STAT signaling pathway	0.071304	-1.26971	0.001027	0.018005	73
hsa04621 NOD-like receptor signaling pathway	0.070683	-1.26776	0.001031	0.018005	91
hsa00601 Glycosphingolipid biosynthesis - lacto and neolacto series	0.095572	-1.2792	0.001316	0.020753	12
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	0.087552	-1.23497	0.001328	0.020753	83
hsa04930 Type II diabetes mellitus	0.036333	-1.22275	0.001783	0.025286	40
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	0.065547	-1.20274	0.001788	0.025286	71
hsa05160 Hepatitis C	0.088347	-1.1755	0.002104	0.02841	105
hsa04727 GABAergic synapse	0.055078	-1.14958	0.002666	0.03442	70
hsa05145 Toxoplasmosis	0.093434	-1.14113	0.002782	0.034425	70
hsa05169 Epstein-Barr virus infection	0.074761	-1.12347	0.003128	0.037157	125
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	0.088941	-1.11071	0.003458	0.038429	70
hsa04742 Taste transduction	0.049971	-1.11725	0.003696	0.038429	37
hsa05152 Tuberculosis	0.112139	-1.09832	0.003715	0.038429	90
hsa04020 Calcium signaling pathway	0.011845	-1.09929	0.003752	0.038429	175
hsa04728 Dopaminergic synapse	0.068908	-1.06643	0.004694	0.046472	95
hsa05321 Inflammatory bowel disease (IBD)	0.097972	-1.07618	0.005131	0.048228	23
hsa04360 Axon guidance	0.007494	-1.05135	0.005254	0.048228	145
hsa04725 Cholinergic synapse	0.071482	-1.0474	0.005434	0.048228	92
hsa04622 RIG-I-like receptor signaling pathway	0.108817	-1.05413	0.005521	0.048228	38

Table A.27. Results of Fisher's statistical meta-analysis, based on the enrichment data of the human MDD gene sets (Table A.20), rat CUS (Table A.21), and CUS *Danio rerio* (Table A.22) vs. control groups using only 1:1:1 orthologous genes between human, rat, and zebrafish, using the metaRNASeq R package (Experiment 3) [373, 377]. P-value and FDR are set to 0.05.

Set code and name	fishcombg.TestStatistic	fishcombg.rawpval	fishcombg.adjpval
Bidirected			
hsa04020 Calcium signaling pathway	105.9646	0	0
hsa04080 Neuroactive ligand-receptor interaction	210.1503	0	0
hsa04512 ECM-receptor interaction	80.05214	3.44E-15	3.41E-13
hsa05414 Dilated cardiomyopathy	71.98025	1.6E-13	1.19E-11
hsa04024 cAMP signaling pathway	69.10555	6.24E-13	3.7E-11
hsa05410 Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	63.42645	9.04E-12	4.47E-10
hsa05032 Morphine addiction	58.82909	7.78E-11	3.3E-09
hsa04742 Taste transduction	54.48003	5.9E-10	2.19E-08
hsa05033 Nicotine addiction	51.67058	2.17E-09	7.17E-08
hsa04510 Focal adhesion	48.96895	7.56E-09	2.25E-07
hsa04974 Protein digestion and absorption	47.31149	1.62E-08	4.38E-07
hsa04010 MAPK signaling pathway	46.64594	2.2E-08	5.03E-07
hsa04724 Glutamatergic synapse	46.70773	2.14E-08	5.03E-07
hsa04360 Axon guidance	46.24113	2.65E-08	5.62E-07
hsa05200 Pathways in cancer	45.21253	4.25E-08	8.41E-07
hsa04725 Cholinergic synapse	44.98379	4.72E-08	8.75E-07
hsa04261 Adrenergic signaling in cardiomyocytes	44.63607	5.53E-08	9.66E-07
hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	43.82068	8.02E-08	1.19E-06
hsa04151 PI3K-Akt signaling pathway	44.04572	7.24E-08	1.19E-06
hsa05412 Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	43.8251	8.01E-08	1.19E-06
hsa04610 Complement and coagulation cascades	40.46671	3.69E-07	5.22E-06
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	40.13629	4.28E-07	5.78E-06
hsa04713 Circadian entrainment	39.55435	5.57E-07	7.2E-06
hsa04925 Aldosterone synthesis and secretion	38.77609	7.92E-07	9.8E-06
hsa05205 Proteoglycans in cancer	38.33155	9.68E-07	1.15E-05
hsa04726 Serotonergic synapse	36.98682	1.77E-06	2.02E-05
hsa05146 Amoebiasis	36.56575	2.14E-06	2.35E-05
hsa04380 Osteoclast differentiation	34.17577	6.22E-06	6.25E-05
hsa04727 GABAergic synapse	34.24353	6.04E-06	6.25E-05
hsa05150 Staphylococcus aureus infection	34.14331	6.31E-06	6.25E-05
hsa04912 GnRH signaling pathway	33.79614	7.37E-06	7.06E-05
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	32.36212	1.39E-05	0.000125
hsa04913 Ovarian steroidogenesis	32.42519	1.35E-05	0.000125
hsa04917 Prolactin signaling pathway	32.19343	1.5E-05	0.000131
hsa05030 Cocaine addiction	31.98865	1.64E-05	0.000139
hsa04640 Hematopoietic cell lineage	31.29279	2.23E-05	0.000181
hsa04916 Melanogenesis	31.2706	2.25E-05	0.000181
hsa04740 Olfactory transduction	31.17152	2.35E-05	0.000184
hsa05031 Amphetamine addiction	30.84206	2.72E-05	0.000207

hsa04668 TNF signaling pathway	30.5511	3.09E-05	0.000224
hsa04728 Dopaminergic synapse	30.6059	3.01E-05	0.000224
hsa04923 Regulation of lipolysis in adipocytes	29.95212	4.01E-05	0.000284
hsa04310 Wnt signaling pathway	29.45822	4.98E-05	0.000344
hsa04390 Hippo signaling pathway	29.00879	6.06E-05	0.000402
hsa05133 Pertussis	28.99786	6.09E-05	0.000402
hsa04015 Rap1 signaling pathway	28.44488	7.75E-05	0.0005
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	28.35024	8.07E-05	0.00051
hsa04933 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	28.28011	8.32E-05	0.000515
hsa04976 Bile secretion	27.56954	0.000113	0.000686
hsa04918 Thyroid hormone synthesis	27.29267	0.000128	0.000758
hsa04550 Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	27.10532	0.000138	0.00079
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	27.11268	0.000138	0.00079
hsa05217 Basal cell carcinoma	27.00294	0.000145	0.00081
hsa04924 Renin secretion	26.58914	0.000173	0.000951
hsa05144 Malaria	26.22524	0.000202	0.001091
hsa04911 Insulin secretion	24.70662	0.000387	0.002052
hsa00830 Retinol metabolism	24.37948	0.000445	0.002317
hsa04930 Type II diabetes mellitus	23.92512	0.000539	0.00276
hsa04970 Salivary secretion	23.70895	0.000591	0.002974
hsa04659 Th17 cell differentiation	23.26234	0.000713	0.00353
hsa04971 Gastric acid secretion	22.77132	0.000877	0.004269
hsa04270 Vascular smooth muscle contraction	22.66911	0.000915	0.004349
hsa05418 Fluid shear stress and atherosclerosis	22.65042	0.000922	0.004349
hsa05224 Breast cancer	22.25349	0.001089	0.005055
hsa04260 Cardiac muscle contraction	22.20347	0.001112	0.005082
hsa04014 Ras signaling pathway	21.78271	0.001326	0.005877
hsa05202 Transcriptional misregulation in cancer	21.78376	0.001325	0.005877
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	21.2982	0.001621	0.007082
hsa04744 Phototransduction	21.22448	0.001672	0.007196
hsa05320 Autoimmune thyroid disease	16.8558	0.002062	0.008747
hsa05204 Chemical carcinogenesis	20.6245	0.002142	0.008962
hsa04750 Inflammatory mediator regulation of TRP channels	20.2076	0.002543	0.010491
hsa00140 Steroid hormone biosynthesis	19.58813	0.003278	0.013154
hsa04371 Apelin signaling pathway	19.59575	0.003267	0.013154
hsa04540 Gap junction	18.5654	0.004964	0.019658
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	18.24778	0.005642	0.022048
hsa04721 Synaptic vesicle cycle	17.63896	0.007201	0.027774
hsa05321 Inflammatory bowel disease (IBD)	17.57169	0.007397	0.028164
hsa04670 Leukocyte transendothelial migration	17.17255	0.00867	0.032513
hsa02010 ABC transporters	17.1471	0.008758	0.032513
hsa04062 Chemokine signaling pathway	16.93558	0.009523	0.034917
hsa04730 Long-term depression	16.34444	0.01202	0.043535
hsa04630 Jak-STAT signaling pathway	16.12578	0.013095	0.046856
hsa05140 Leishmaniasis	16.08239	0.013319	0.04709
hsa05416 Viral myocarditis	15.90752	0.014259	0.049823

Upregulated			
hsa05020 Prion diseases	40.08984	4.37E-07	0.00013
hsa05010 Alzheimer's disease	37.1653	1.63E-06	0.000243
hsa04380 Osteoclast differentiation	34.05156	6.57E-06	0.000421
hsa05012 Parkinson's disease	34.48451	5.42E-06	0.000421
hsa05016 Huntington's disease	33.88408	7.08E-06	0.000421
hsa05032 Morphine addiction	32.78478	1.15E-05	0.000571
hsa00190 Oxidative phosphorylation	32.13882	1.53E-05	0.000651
hsa04659 Th17 cell differentiation	31.32877	2.19E-05	0.000655
hsa05014 Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	31.76985	1.81E-05	0.000655
hsa03010 Ribosome	31.31553	2.21E-05	0.000655
hsa04724 Glutamatergic synapse	30.01513	3.9E-05	0.001054
hsa05145 Toxoplasmosis	28.7661	6.74E-05	0.001667
hsa04062 Chemokine signaling pathway	27.44244	0.00012	0.002733
hsa05168 Herpes simplex infection	26.8711	0.000153	0.003248
hsa04723 Retrograde endocannabinoid signaling	26.30394	0.000195	0.003869
hsa05140 Leishmaniasis	26.10684	0.000213	0.003948
hsa04010 MAPK signaling pathway	25.54392	0.000271	0.004729
hsa04668 TNF signaling pathway	24.85618	0.000363	0.00599
hsa04727 GABAergic synapse	23.84573	0.000558	0.008404
hsa05340 Primary immunodeficiency	23.81023	0.000566	0.008404
hsa05133 Pertussis	23.6611	0.000603	0.008525
hsa04217 Necroptosis	23.28641	0.000706	0.009531
hsa04713 Circadian entrainment	23.10332	0.000763	0.009848
hsa05142 Chagas disease (American trypanosomiasis)	22.84493	0.00085	0.01052
hsa04621 NOD-like receptor signaling pathway	22.499	0.000983	0.011676
hsa03050 Proteasome	22.03266	0.001194	0.01267
hsa04064 NF-kappa B signaling pathway	22.05104	0.001185	0.01267
hsa04658 Th1 and Th2 cell differentiation	22.09824	0.001162	0.01267
hsa05162 Measles	21.25339	0.001652	0.016917
hsa04932 Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	21.09673	0.001763	0.01745
hsa04145 Phagosome	20.89385	0.001917	0.017792
hsa04730 Long-term depression	20.91745	0.001898	0.017792
hsa04660 T cell receptor signaling pathway	20.24601	0.002503	0.021688
hsa04930 Type II diabetes mellitus	20.29055	0.002458	0.021688
hsa05152 Tuberculosis	20.19559	0.002556	0.021688
hsa04014 Ras signaling pathway	19.48371	0.00342	0.028216
hsa04144 Endocytosis	19.21801	0.003811	0.03059
hsa04514 Cell adhesion molecules (CAMs)	19.11158	0.003979	0.031101
hsa04060 Cytokine-cytokine receptor interaction	18.93353	0.004277	0.032574
hsa04725 Cholinergic synapse	18.86304	0.004401	0.03268
hsa04961 Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	18.60404	0.004887	0.035403
hsa04630 Jak-STAT signaling pathway	18.47489	0.005149	0.035563
hsa04726 Serotonergic synapse	18.52047	0.005055	0.035563
hsa04020 Calcium signaling pathway	18.05807	0.006089	0.041099
hsa05167 Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection	17.95853	0.006337	0.041822

hsa04022 cGMP-PKG signaling pathway	17.78517	0.006792	0.042026
hsa04620 Toll-like receptor signaling pathway	17.79986	0.006752	0.042026
hsa01521 EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	17.78522	0.006792	0.042026
hsa04662 B cell receptor signaling pathway	17.68912	0.007058	0.042202
hsa04728 Dopaminergic synapse	17.67258	0.007105	0.042202
hsa05169 Epstein-Barr virus infection	17.59996	0.007314	0.042591
hsa05160 Hepatitis C	17.4824	0.007665	0.043777
hsa05200 Pathways in cancer	17.38825	0.007957	0.044592
hsa01200 Carbon metabolism	17.32899	0.008147	0.04481
hsa04612 Antigen processing and presentation	17.08435	0.008978	0.048023
hsa04921 Oxytocin signaling pathway	17.06292	0.009055	0.048023

Table A.28. Results of a statistical analysis of the enrichment of gene sets for whole-brain samples of CUS *Danio rerio* from the maximal cliques found in the protein-protein network of interactions of all defined 1:1 1 orthologous genes of humans, rats, and zebrafish, the enrichment of which was assessed using normalized and log2- transformed counts using the Generally Applicable Functional Enrichment Analysis function (GAGE; Experiment 4) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

Maximal cliques	**p.geomean**	**stat.mean**	**p.val**	**q.val**	**set.size**
KCNH1 KCNA4 KCNA2 KCNB1 KCNH5 KCNA5	0.010615784007 2457	3.03555355179 913	3.65324140785854 e-08	0.00024342514311 8951	5
KCNH1 KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNB1 KCNH5	0.010603264724 963	2.70373140653 806	4.04831437084568 e-08	0.00024342514311 8951	6
KCNH1 KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNB1 KCNH5	0.010603264724 963	2.70373140653 806	4.04831437084568 e-08	0.00024342514311 8951	6
KCNH1 KCNA1 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH5	0.014574519083 0216	2.53839141155 662	1.37175791960253 e-07	0.00052295718870 0021	6
KCNH1 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNH5 KCNA5	0.015179503605 7337	2.76262290262 762	1.4495182346583e-07	0.00052295718870 0021	5
KCNH1 KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNH5 KCNA5	0.014131775009 7448	2.67291639777 968	1.84070800620201 e-07	0.00055340886206 4634	5
KCNH1 KCNA1 KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH5	0.014887432234 7224	2.48037829786 819	2.63165818084099 e-07	0.00059431637544 6355	6
STAT5A MAPK1 STAT5B FYN SRC ABL1 STAT3	0.014874120671 6595	2.67289876267 808	2.75615482925788 e-07	0.00059431637544 6355	6
KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNB1 KCNA5	0.013448667607 0157	3.07045983780 521	2.96515736959764 e-07	0.00059431637544 6355	4
KCNA4 KCNA2 KCNH7 KCNB1 KCNA5	0.014126166685 3662	3.26158999274 572	3.39407369419714 e-07	0.00061225695369 6223	4
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNH7 KCNB1	0.014649414689 9095	2.61445980876 338	4.08894187165423 e-07	0.00061467018685 6422	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH7 KCNB1	0.014649414689 9095	2.61445980876 338	4.08894187165423 e-07	0.00061467018685 6422	5
PIK3CA FYN CDC42 SRC KDR CBL	0.016619769196 7684	2.78408858110 51	5.80552754127501 e-07	0.00080558393320 8152	5
KCNA1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA3 KCNB1	0.015961373467 4627	2.53536194623 945	7.13794234021981 e-07	0.00085240488685 63	5
KCNA1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNB2 KCNB1	0.015961373467 4627	2.53536194623 945	7.13794234021981 e-07	0.00085240488685 63	5
FYN CDC42 SRC PXN KDR CBL	0.017301072004 3824	2.74060905071 971	7.560551133489e-07	0.00085240488685 63	5
KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNH7 KCNA5	0.019983560881 734	2.84814719704 06	1.04489707358456 e-06	0.00110875872414 069	4
KCNH1 KCNA1 KCNAB3 KCNA4 KCNA2 KCNH5	0.022798448711 361	2.35712118081 079	1.14063049113595 e-06	0.00114310185720 008	5
KCNA1 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH7	0.020695897895 3667	2.42688821555 607	1.32965908106472 e-06	0.00126240632438 56	5

KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA3 KCNB1	0.023492096120 4341	2.33395676368 973	1.676507152196e-06	0.00144011964373 636	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNH8 KCNB1	0.023492096120 4341	2.33395676368 973	1.676507152196e-06	0.00144011964373 636	5
KCNAB2 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA5	0.023131486500 0845	2.67590408102 833	2.08443285173109e-06	0.00170914019147 169	4
KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNB1 KCNA5	0.025168221090 5271	2.71318770605 943	2.20413696166026e-06	0.00172871420223 432	4
KCNA1 KCNAB2 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA3	0.022944306570 7345	2.35461864775 062	2.37562716839077e-06	0.00174169103995 837	5
KCNAB1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA5	0.019143932854 5855	2.82988932089 346	2.41378546476851e-06	0.00174169103995 837	4
KCNA1 KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNH7	0.020527713624 3906	2.37075831788 289	2.63720650094015e-06	0.00182971415655 613	5
KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNH7 KCNA5	0.021528894433 682	2.85928828304 505	2.97965297261232e-06	0.00199073925825 755	4
KCNH1 KCNQ2 KCNQ3 KCNH5	0.026356080516 3466	2.57254337466 567	3.66396757075287e-06	0.00229240860365 868	4
KCNA1 KCNAB1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNA3	0.020965016464 8062	2.33386701272 285	3.6853400690782e-06	0.00229240860365 868	5
KCNA1 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA3	0.030053635774 0991	2.19361614653 757	5.01506456231482e-06	0.00295390626303 191	5
KCNH1 KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNF1 KCNA3 KCNH5	0.032527206448 4206	2.07550585981 722	5.07628439237148e-06	0.00295390626303 191	6
KCNH1 KCNA4 KCNA2 KCNF1 KCNH5 KCNA5	0.034179292330 3888	2.18194912566 365	6.5344215410516e-06	0.00368357594309 468	5
KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA5	0.033402232337 7084	2.47304243406 485	7.74437963004967e-06	0.00423335951958 988	4
SOCS2 STAT5B IGF1R STAT3	0.029274957657 4358	2.51208178222 335	9.59161854894568e-06	0.00508891785307 15	4
KCNA1 KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA3	0.034024589496 647	2.08187010693 346	1.02616834734632e-05	0.00515483001431 066	5
KCNAB1 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNA5	0.034504196142 4674	2.22410095680 588	1.0287370725383e-05	0.00515483001431 066	4
FLT4 NOTCH1 SRC FLT1 KDR	0.039023756071 5826	2.28562780708 956	1.12792968249653e-05	0.00549911447096 076	4
KCNQ2 KCNH7 KCNQ3	0.026888292153 1934	3.19475213848 241	1.19307472811536e-05	0.00566365132117 709	3
KCNA1 KCNAB3 KCNA4 KCNA2 KCNH7	0.033295916194 942	2.23558913752 213	1.25616981712963e-05	0.00581026854646 191	4
KCNH1 KCNQ5 KCNQ3 KCNH5	0.039893501837 7893	2.30468897224 745	1.64498183554723e-05	0.00741845683285 913	4
UBC MAPK1 FYN SRC HSP90AA1 ABL1 STAT3	0.036921476841 1045	1.98666874498 537	2.07307124663288e-05	0.00912100785805 133	6
KCNA1 KCNAB3 KCNA4 KCNH3 KCNA2	0.036221605379 724	2.15654782970 19	2.14669957333166e-05	0.00922007466745 947	4
FYN EPHB2 SRC EFNA5	0.032492873038 2845	2.32076907660 302	2.20396954750826e-05	0.00924590852732 594	4
KCNQ2 KCNH3 KCNQ3	0.031405309537 8088	3.13751598367 506	2.36254306099602e-05	0.00958620277159 428	3
KCNA1 KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNB1	0.037940249104 6978	2.00218936661 655	2.44451093460467e-05	0.00958620277159 428	5
KCNA1 KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNB1	0.037940249104 6978	2.00218936661 655	2.44451093460467e-05	0.00958620277159 428	5
SOCS3 STAT1 SOCS2 STAT5B LCK STAT3	0.043820262073 5516	1.89506128202 5	2.8181130679808e-05	0.01081615779432 03	6
MAPK1 FOS MAPK8 FYN SRC ABL1 STAT3	0.040979658855 1673	1.84801141910 084	3.18668073298364e-05	0.01197594452964 41	7
KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNB1 KCNA5	0.042458493389 5313	2.18609271562 884	3.84372963142148e-05	0.01415041608596 16	4
STAT5B SOCS1 ABL1 STAT3	0.048168229697 7267	2.08139370780 372	4.46136145900948e-05	0.01609569987181 44	4
UBC IKBKB RELA PRKCZ SRC	0.040576747676 0771	2.14584636252 115	4.69878937767172e-05	0.0166198944282	4
KCNA1 KCNH2 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNA3	0.048275519329 6408	1.86647275989 609	5.09228424427164e-05	0.01719504370909 39	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNF1 KCNA3 KCNH7	0.049025125985 1447	1.86775836988 257	5.1284255777365e-05	0.01719504370909 39	5

KCNA1 KCNAB3 KCNA4 KCNA2 KCNH8	0.051225592776 7679	1.93318019324 074	5.14736049831515 e-05	0.01719504370909 39	4
EFNB1 FYN PTPN13 EPHB2 SRC	0.048526498733 8117	1.86173103522 595	5.76865856936023 e-05	0.01892015126048 9	5
MAPK10 MAPK9 DUSP10 MAP2K7	0.048198930563 4947	2.15463287625 437	6.10801193268765 e-05	0.01936472272075 35	4
RAC1 MAPK1 MAPK8 FYN SRC ABL1 STAT3	0.044953356388 2213	1.78049325384 647	6.12998431530044 e-05	0.01936472272075 35	7
SEMA3A NRP1 PLXNA2	0.052755574301 4494	2.24084617085 048	6.22944109662385 e-05	0.01936472272075 35	3
KCNH1 KCNB2 KCNG3 KCNB1 KCNH5	0.049593018035 8052	2.07547490918 402	6.38183869684404 e-05	0.01936472272075 35	4
KCNA4 KCNA2 KCNF1 KCNH7 KCNA5	0.051441910308 1128	1.99178026675 665	6.44095217720058 e-05	0.01936472272075 35	4
MYO9A ITSN1 RHOBTB1	0.048771775966 4266	2.42313087536 613	6.64829127324249 e-05	0.01966041414393 79	3
KCNH1 KCNG1 KCNB1 KCNH5	0.055560223838 5026	1.93153188889 938	7.44127683932862 e-05	0.02102819729790 09	4
STAT5A STAT5B FYN PDGFRB SRC ABL1 STAT3	0.047319801612 2053	1.78633191110 284	7.49662128851383 e-05	0.02102819729790 09	6
UBC MAPK1 FOS FYN SRC ABL1 STAT3	0.053455165890 3192	1.75557289618 344	7.4996278005998e- 05	0.02102819729790 09	6
KCNH2 KCNAB2 KCNA4 KCNA2 KCNA5	0.053569142942 3241	1.95500462198 846	7.57709864384698 e-05	0.02102819729790 09	4
KCNA1 KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNF1 KCNA3	0.053585613724 494	1.79914725921 609	8.34394087974703 e-05	0.02280550750450 86	5
KCNA1 KCNAB1 KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNA3	0.047929196355 5386	1.82964736618 019	9.15850290485112 e-05	0.02465824386576 26	5
MAPK1 STAT5B IGF1R PTPN11 SRC STAT3	0.053400990088 4075	1.74722194462 787	9.73684236868852 e-05	0.02564316680597 79	6
FYN CDC42 SRC PXN ABL1 BCAR1 CBL	0.038462095113 0291	1.82734938251 65	9.90520153094047 e-05	0.02564316680597 79	6
MAPK1 MAPK8 JAK3 LCK STAT3	0.052260152089 1555	1.82235827890 66	0.00010061454106 4959	0.02564316680597 79	5
JAK1 STAT5A TYK2 SOCS3 STAT5B JAK3 STAT6 STAT3	0.059633636364 6649	1.68167949809 889	0.00010133248340 7035	0.02564316680597 79	7
STAT5A SOCS3 JAK2 STAT5B JAK3 STAT6 STAT3	0.058406585101 9009	1.72267503673 599	0.00010258394892 2002	0.02564316680597 79	6
KCNA4 KCNH3 KCNA2 KCNF1 KCNA5	0.056312485082 9004	1.88003479169 317	0.00010377244729 9539	0.02564316680597 79	4
LCP2 GRAP2 ITK FYN ZAP70 CBL	0.056329794664 1182	1.80658617638 99	0.00010813161853 4556	0.02635927387493 05	5
UBC NOTCH1 ARRB1 SRC	0.054493780517 4363	2.23257532903 848	0.00011170892887 7462	0.02651470221079 66	3
AKT1 NOTCH1 ARRB1 SRC	0.054493780517 4363	2.23257532903 848	0.00011170892887 7462	0.02651470221079 66	3
YES1 FYN EPHB2 EFNA5	0.051459410837 4826	2.37257792451 044	0.00011377881462 8378	0.02665527320884 81	3
KCNQ5 KCNH7 KCNQ3	0.053735181632 1546	2.36990462620 463	0.00011930188725 1892	0.02759085569406 25	3
STAT5A SOCS3 JAK2 STAT5B STAT6 SRC STAT3	0.054118716898 3059	1.73441759729 169	0.00012236030801 5654	0.02772055295209 1	6
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNF1 KCNA3	0.064076918191 2282	1.70123701104 759	0.00012293609602 3465	0.02772055295209 1	5
MAPK8 MAPK9 DUSP10 MAP2K7	0.057950502642 3943	1.91587782869 129	0.00013679206972 591	0.03046410056525 55	4
UBC RAC1 MAPK1 FYN SRC ABL1 STAT3	0.059045419601 8439	1.68087895306 192	0.00014473958575 9855	0.03184094375026 86	6
UBC NOTCH1 ITCH ERBB4	0.057540123973 5188	2.25528433632 668	0.00014829207300 7125	0.03191421164016 91	3
KCNQ5 KCNH3 KCNQ3	0.055648660697 5145	2.14766269905 812	0.00014861099716 0275	0.03191421164016 91	3
NCK2 EFNB1 FYN EPHB2 SRC	0.060553511011 3515	1.71373661755 555	0.00015259369145 8531	0.03238397176729 93	5
KCNH1 KCND3 KCNB2 KCNB1 KCNH5	0.056865546412 0165	1.94401444949 145	0.00015813156041 2207	0.03316901416599 77	4
KCNAB1 KCNH2 KCNA4 KCNA2 KCNA5	0.057134128505 2754	1.96329738731 107	0.00017785991761 5551	0.03556136295979 26	4

FLT4 ANGPT2 NOTCH1 FLT1 KDR	0.072027563468 1416	1.73761572371 542	0.00018188491822 9436	0.03556136295979 26	4
KCNH1 KCNB1 KCNH5 KCNS3	0.067729063972 4265	1.75684694568 989	0.00018279699995 8772	0.03556136295979 26	4
EFNB1 FYN SRC EPHA5	0.062762113469 489	2.03281497732 606	0.00018464230446 2477	0.03556136295979 26	3
EFNB1 EPHA6 FYN SRC	0.062762113469 489	2.03281497732 606	0.00018464230446 2477	0.03556136295979 26	3
KCNH1 KCNQ4 KCNQ3 KCNH5	0.067842778641 7247	2.06731044432 695	0.00018571859320 2574	0.03556136295979 26	3
KCNA4 KCNA2 KCNH8 KCNF1 KCNA5	0.069184844538 7379	1.76271601074 376	0.00018678736576 7867	0.03556136295979 26	4
KCNH1 KCNA10 KCNB1 KCNH5	0.066505870093 6904	2.13784534460 859	0.00019122191956 8706	0.03556136295979 26	3
KCNH1 KCNB1 KCNH5 KCND2	0.066505870093 6904	2.13784534460 859	0.00019122191956 8706	0.03556136295979 26	3
KCNH1 KCNV1 KCNB1 KCNH5	0.066505870093 6904	2.13784534460 859	0.00019122191956 8706	0.03556136295979 26	3
KCNH1 KCNB1 KCNH5 KCNG2	0.066505870093 6904	2.13784534460 859	0.00019122191956 8706	0.03556136295979 26	3
RAC1 MAPK1 MAPK8 FYN SRC PXN ABL1	0.051399230006 9138	1.64834196864 766	0.00020140581123 7371	0.03707305539705 04	7
MYO9A RHOBTB1 ARHGEF3	0.062404875029 3838	2.13827001460 911	0.00021096467711 8741	0.03844032131863 61	3
NCAM1 FYN KIT	0.065393402473 8645	2.07521133955 37	0.00021331270881 5389	0.03847947954320 8	3
SOCS3 STAT1 STAT5B PTPN11 JAK3 LCK STAT3	0.071152206484 0302	1.56662497153 599	0.00022496428765 1006	0.03944515630864 68	7
KCNA1 KCNH4 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNB1	0.061108557345 402	1.67759767311 146	0.00022522596040 7485	0.03944515630864 68	5
KCNA1 KCNH4 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNB1	0.061108557345 402	1.67759767311 146	0.00022522596040 7485	0.03944515630864 68	5
KCNQ2 KCNH8 KCNQ3	0.067198553632 9718	2.26899352378 063	0.00023295733482 367	0.04040689772004 02	3
UBC MAPK1 IGF1R SRC HSP90AA1 STAT3	0.063673620513 9766	1.67778318541 969	0.00023992013810 46	0.04121827972637 03	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNA3 KCNB1 KCNH6	0.068203272281 0909	1.63392752871 746	0.00025691486878 1882	0.04293631293944 85	5
KCNA1 KCNA4 KCNA2 KCNB2 KCNB1 KCNH6	0.068203272281 0909	1.63392752871 746	0.00025691486878 1882	0.04293631293944 85	5
JAK1 TYK2 STAT5B SOCS1 JAK3 STAT6 STAT3	0.071556982570 7676	1.55318386451 139	0.00025875093327 4374	0.04293631293944 85	7
YES1 EFNB1 FYN PTPN13 EPHB2	0.070833464102 5282	1.70822243882 08	0.00025944110595 9304	0.04293631293944 85	4
YES1 ITK FYN ZAP70 CBL	0.070505043959 0707	1.87983101160 174	0.00026294744453 09	0.04312099047175 37	4
JAK2 STAT5B SOCS1 JAK3 STAT6 STAT3	0.068969039876 3337	1.58694126976 284	0.00027884183616 516	0.04531556650975 96	6
STAT5B SOCS1 FLT3 STAT3	0.072117508826 1811	1.70034119979 645	0.00029621119994 5305	0.04770851639119 06	4

Table A.29. Results of Fisher's statistical meta-analysis based on the data of enrichment of gene sets from maximal cliques for the subiculum of human MDD, the hippocampus of CUS rats, and whole-brain samples of CUS *Danio rerio*, found in the protein-protein network of 1:1:1 interactions of all defined orthologous genes human, rat and zebrafish, using the metaRNASeq R package (Experiment 4) [373, 377]. P-value and FDR are set to 0.05.

Maximal cliques	**fishcombg.TestStatistic**	**fishcombg.rawpval**	**fishcombg.adjpval**
WNT7B WNT9A SFRP1 SFRP2	59.6447367516849	5.31458210772939e-11	7.96561679838881e-07
PLCG2 SYK PIK3CG RAC2 PIK3CD	58.243451300239	1.02282959879574e-10	7.96561679838881e-07
NGFR RTN4R MAG LINGO1	57.6892502981525	1.32473254588206e-10	7.96561679838881e-07
AR SMAD3 FOS JUN RUNX2	54.6615955793397	5.42517475388138e-10	2.44661818463165e-06
MYO9B CDC42 RHOC ARHGEF16 RAC2	53.8718863376468	7.82927056519611e-10	2.82464423451145e-06
WNT7B WNT8B SFRP1 SFRP2	53.1209410694568	1.10929954111327e-09	3.33510907035706e-06

COL1A2 ITGA2 COL1A1	52.1095541458008	1.7725763079568e-09	4.56792914560467e-06
CDC42 RHOC RAC2 ARAP3	51.6632542913258	2.17938378455074e-09	4.91423801118884e-06
MYO9B CDC42 RHOC NGEF RAC2	51.2335509995839	2.65869937177143e-09	5.32891977415388e-06
MYO9B ARHGEF16 RHOB RAC2	50.5014421974029	3.72935238246441e-09	6.72737876272755e-06
PLCG1 HCK GAB1 PIK3CG SRC	50.0728209245472	4.54566573271364e-09	7.03411725769265e-06
EGR1 FOS CREBBP JUN RELA SRC	50.0100675076897	4.6792730801215e-09	7.03411725769265e-06
WNT7B WNT9A FZD5 LRP6	48.9691886140849	7.5625704587523e-09	1.04939391158025e-05
GNA15 PLCB3 QRFPR	48.378489464288	9.92724447090865e-09	1.27580680507888e-05
GNA15 PLCB3 HCRTR2	48.234248482658	1.06087377771402e-08	1.27580680507888e-05
ARHGAP36 RHOC ARHGEF16 RAC2	47.6670433568832	1.37715659986881e-08	1.55265799406459e-05
ARHGAP6 RHOC ARHGEF16 RAC2	46.9628629367113	1.90331873595184e-08	2.01964509869619e-05
ARHGAP31 RHOC ARHGEF16 RAC2	46.7819059681436	2.06821235693155e-08	2.07269348370491e-05
ARHGAP11B RHOC ARHGEF16 RAC2	46.4564645967245	2.40137268958662e-08	2.27991378670806e-05
AKT1 EGR1 FOS CREBBP SRC	45.9696859591013	3.00197845470862e-08	2.70763446722444e-05
WNT7B WNT8B FZD5 LRP6	45.7765611803967	3.27979132741518e-08	2.81734075024964e-05
ARHGAP6 RHOC NGEF RAC2	45.1933693502952	4.28386520701096e-08	3.51257474860322e-05
ARHGAP36 RHOC NGEF RAC2	45.0059588803268	4.66747013261326e-08	3.66071711835698e-05
ARHGAP11B RHOC NGEF RAC2	44.7402050610678	5.27076434719831e-08	3.91036419751778e-05
ARHGAP31 RHOC NGEF RAC2	44.6794194659418	5.41931952646735e-08	3.91036419751778e-05
CDC42 RHOC PLEKHG5 RAC2	44.3439989414209	6.31725022293139e-08	4.38295679890228e-05
MYO9B NGEF RHOB RAC2	43.9673705758932	7.50304387509004e-08	5.01286698010183e-05
RARA NR4A1 THRB RXRG NCOR2	43.512229470681	9.23514060779951e-08	5.89779503610583e-05
WNT7B WNT8B FZD10	43.4545190279758	9.48145995049998e-08	5.89779503610583e-05
WNT7B WNT9A FZD10	42.6301386998142	1.38045023412303e-07	8.30064725778179e-05
WNT9A WNT2 WNT2B SFRP1 SFRP2	42.5281744789838	1.44603665930276e-07	8.41453396682663e-05
GNA15 PLCB3 OXTR	42.0033245800622	1.83599371927912e-07	0.000103498408443987
WNT7B WNT8B FZD8 LRP5	41.5107300559899	2.2965657309193e-07	0.000125538634000161
PLCG1 SYK HCK PIK3CG SRC PIK3CD	40.8045590199694	3.16402383626624e-07	0.000167870076418843
RARA THRB NR4A2 RXRG	40.5744413176015	3.5118607411011e-07	0.000181001302596351
CACNG2 GRIA1 PRKACA	40.4037538949973	3.79419806684211e-07	0.000190120941466014
PLCB3 SYNJ1 SYNJ2 PIP5K1C PIK3C2G	40.1838982164188	4.19136938711873e-07	0.000204346249660094
PLCG1 PLCG2 SYK HCK PIK3CG PIK3CD	39.9610584901096	4.63612130463531e-07	0.000220081558458727
WNT7B WNT9B SFRP1 SFRP2	39.7120272500562	5.18886953848607e-07	0.000240005173345514
CDC20 CDK1 CCNF PLK1 CDC6	39.1193713820466	6.78212199622941e-07	0.000305856746724956
RARA CREBBP RXRG NCOR2	38.6363703347645	8.43352891743976e-07	0.000371054702784624
AKT1 RARA ESR1 NR4A1 NCOR2	38.5261816280887	8.8630618599872e-07	0.00038066850688645
RARA EP300 ESR1 NR4A1 NCOR2	38.4698452633776	9.09100132617802e-07	0.000381378076564942
EP300 EGR1 FOS CREBBP JUN RELA	38.3037527279365	9.79749113505513e-07	0.000401674869511953
WNT8B WNT2 WNT2B SFRP1 SFRP2	38.0598816461823	1.09348339427662e-06	0.00043834104331902
ADRA1A GNA15 PLCB3 ADRA1B	37.9617173548793	1.14288510444371e-06	0.000448184878240438
VDR NR4A1 RXRG NCOR2	37.6075036942091	1.34030994947132e-06	0.000514422365500279
GNA15 PLCB3 PIK3C2G	37.1663667782001	1.63415616549756e-06	0.000614136313946051
PPARG NR4A1 RXRG NCOR2	36.7385411518706	1.98006636531467e-06	0.000728947289059415
MAPK14 FOS SYK MAPK11 JUN SRC LYN	36.4011996931694	2.30332885275963e-06	0.000830994983498621
RARA ESR1 NR4A1 THRB NCOR2	36.2382018780934	2.47779772311052e-06	0.000876411629944915
RARA NR4A2 RXRG NR0B2	35.983654566271	2.77686394345444e-06	0.000963304782230283

ARHGDIB CDC42 RHOC RAC2	35.9335542744925	2.83981790860643e-06	0.000966556136855688
MYO9B RHOG ARHGEF16	35.8872654698183	2.89924136054331e-06	0.000968507683385942
PLCG1 JAK2 GAB1 KIT PIK3CG	35.5903384534648	3.31090214045204e-06	0.00108591570384753
WNT7B WNT8A SFRP1 SFRP2	35.3840120572437	3.63063396002783e-06	0.00116219656503117
RHOC ARHGEF16 RAC2 ARHGAP11A	35.3584437613061	3.67233240239351e-06	0.00116219656503117
LPAR1 GNA15 PLCB3	35.3043614278625	3.7621064743476e-06	0.00117007997742684
THRA NR4A2 NR2F1 RXRG	35.0616972401407	4.19249624383777e-06	0.00128183796173881
EP300 EGR1 FOS NFATC2 CREBBP JUN	34.9834836198275	4.34137117955036e-06	0.00130523324513181
WNT9A WNT2 FZD5 WNT2B LRP6	34.9023606932097	4.50132922247271e-06	0.00133113898105222
WNT10A SFRP1 SFRP2	34.671521424046	4.98921832914334e-06	0.00145162111999059
CGN TJP1 TJP2	34.6217578746682	5.10108483853244e-06	0.00145994483648734
VDR NR4A2 RXRG	34.5874333472483	5.17969230751092e-06	0.00145994483648734
WNT9A WNT16 SFRP1 SFRP2	34.5218380467795	5.33327301566189e-06	0.0014801063373773
SYK SOS1 RAC2 PIK3CD	34.3184104104594	5.83889364069723e-06	0.00159587579370511
CDC20 CDK1 CCNF CDK2 CDC6	34.0765819803637	6.50216082154209e-06	0.00175063401581788
WNT7B SFRP5 WNT8B	33.8230719689251	7.27780623099861e-06	0.00193065215589682
RHOC NGEF RAC2 ARHGAP11A	33.755471209642	7.49970662561328e-06	0.0019606841712962
PLCG1 PLCG2 SYK LYN TEC	33.6948698129674	7.70433036734186e-06	0.001985405935664
PLCG1 PLCG2 SYK PIK3CG LYN PIK3CD	33.6224330839694	7.95619502957923e-06	0.00202143383293774
WNT7B WNT9A FZD2 FZD1	33.5765518366586	8.11993356653051e-06	0.00203438168898117
TRHR GNA15 PLCB3	33.4616887894798	8.5446577060555e-06	0.00211146685424021
SYNJ1 PLCD1 PIP5K1C PIK3C2G	33.3642036265086	8.92236207428176e-06	0.00217500661429687
SYNJ1 PIP5K1C PIK3C2G PLCZ1	33.2793756503639	9.26447229399052e-06	0.0022282908761506
PLCB2 SYNJ1 PIP5K1C PIK3C2G	33.2268896816649	9.48263067768185e-06	0.0022507522999303
PLCB1 SYNJ1 PIP5K1C PIK3C2G	33.175705817089	9.70028239066778e-06	0.00227251161097735
PLCB3 SYNJ1 PIK3CG SYNJ2 PIP5K1C PIK3CD	33.0495911814933	1.02579406958681e-05	0.00237234605400979
MYO9B RHOG NGEF	32.922502810152	1.08520593187222e-05	0.00247797845633456
OCLN TJP1 TJP2	32.8830345296683	1.10434201551213e-05	0.00249015320222791
CACNB3 CACNA1C CACNA2D1	32.6071057927806	1.24780173648142e-05	0.00277890068202326
SMAD3 HDAC1 ATF3 JUN	32.4885861450693	1.31495827895289e-05	0.00289274785293064
GNA15 PLCB3 AVPR1A	32.3888890478782	1.37421563475293e-05	0.00297181999437293
PLCB2 ADRA1A GNA15 ADRA1B	32.3730820911471	1.38385098690241e-05	0.00297181999437293
ADRA1A GNA15 PLCB1 ADRA1B	32.3088464542448	1.42370068278996e-05	0.00302142783727625
GNA15 PLCB3 GRPR	32.2255117932349	1.47709839364296e-05	0.0030982997584797
EGR1 MAPK1 FOS MAPK8 JUN SRC	31.9416566788886	1.67432119215771e-05	0.00347161838911873
APC2 JUP CDH1	31.8316872832719	1.75755673432754e-05	0.00360279158301528
CD36 SRC LYN	31.7384324454894	1.8313453144847e-05	0.00371186945258309
CARD11 PDPK1 PRKCQ MAP3K7	31.6898180104563	1.8710209617967e-05	0.00374637536007764
WNT10A FZD5 LRP6	31.66703591263	1.88990607997708e-05	0.00374637536007764
ADRA1A GNA15 PLCB3 ADRA1D	31.6348804376654	1.91688309921778e-05	0.00375854937247713
UBC FOS RB1 JUN RUNX2	31.5666818957685	1.97536805744969e-05	0.00383157681594999
EP300 FOS RB1 JUN RUNX2	31.4987257705381	2.03540342460506e-05	0.00389002299315658
AR FOS RB1 JUN RUNX2	31.4840224499839	2.0486289946775e-05	0.00389002299315658
WNT8B WNT2 FZD5 WNT2B LRP6	31.4341482440488	2.09412812453014e-05	0.00392579539284893
AKT1 PIK3CG RAC2 PIK3CD	31.4159332451564	2.11099369757939e-05	0.00392579539284893
CDC42 PIK3CG RAC2 PIK3CD	31.3109958652498	2.21081104274656e-05	0.0040694714693985

UBC FOS ESR1 JUN RELA SRC	31.1944330846868	2.32717565278318e-05	0.00424039612126825
PTPN6 GAB1 EGFR SRC	31.1309213870114	2.39311241133633e-05	0.0043169354788096
RARA ESR1 THRB NR4A2	30.9882579265557	2.54804726270708e-05	0.00450908968244151
UBC FOS SYK JUN SRC LYN STAT3	30.9803135037291	2.55696127859917e-05	0.00450908968244151
SRF EGR1 FOS CREBBP	30.96465361418	2.57462296852085e-05	0.00450908968244151
KCNH4 KCNQ2 KCNQ1	30.8887290727117	2.66198102600868e-05	0.00461725728155485
GNA15 PLCB3 GHSR	30.8008516636922	2.76676284870492e-05	0.00475329857407505
WNT8B WNT16 SFRP1 SFRP2	30.6470371853405	2.96008938877046e-05	0.00499484520755704
UBC VCL ACTN1 SRC CDH1	30.6449991769593	2.96273871727148e-05	0.00499484520755704
PTPN11 HCK GAB1 PIK3CG SRC	30.6164587968858	3.00008771065841e-05	0.00501097983449694
ARHGDIA CDC42 RHOC RAC2	30.594128560534	3.02963468697959e-05	0.00501390643288301
WNT9A WNT5B SFRP1 SFRP2	30.5082992469776	3.14590950707405e-05	0.00515900559982807
AKT1 RARA ESR1 CREBBP NCOR2	30.3820478557908	3.32502017046377e-05	0.00540360710405368
EP300 PPARG ESR1 NR4A1 NCOR2	30.2376515774028	3.54227707692889e-05	0.00570528001702859
CACNG2 GRIA1 DLG1	30.0528172043179	3.84099446424369e-05	0.00613165479119397
NR4A1 THRA RXRG NCOR2	29.9919081658471	3.94479288149396e-05	0.00624211568326926
PLCD4 SYNJ1 SYNJ2 PIP5K1C PIK3C2G	29.8713832549122	4.15843775797287e-05	0.00652296162748457
GNA15 PLCB3 PROKR2	29.7432709341114	4.39809642140965e-05	0.00683941908153523
FYB SKAP1 LCK	29.3625585293389	5.19394030484843e-05	0.00800799052642401
WNT2 WNT9B WNT2B SFRP1 SFRP2	29.3420171659538	5.2407166497348e-05	0.00801163454614967
WNT7B FZD10 WNT8A	29.2770944891824	5.39131484529332e-05	0.00817259903312993
ARHGEF11 MYO9B RHOC RAC2	29.2130756837912	5.54400726100468e-05	0.00833402891510528
AKAP13 MYO9B RHOC RAC2	29.1450784988904	5.71087537135639e-05	0.00851205231589593
WNT9A WNT5A SFRP1 SFRP2	29.1194012638207	5.7751726671551e-05	0.00851205231589593
WNT7B WNT8B FZD2 FZD1	29.1079831754161	5.80399376270968e-05	0.00851205231589593
PSEN1 CTNND2 CDH1	29.0112510115076	6.05393970932733e-05	0.00880701761423836
ATF2 FOS DUSP10 MAPK13	28.9787295381615	6.14034046386713e-05	0.00886124813021594
PLCG1 SYK HCK PIK3CG SRC CBL	28.9039214363404	6.34374239359969e-05	0.00908212452683689
WNT7B WNT9A FZD8 LRP6	28.8016052239887	6.63276780630273e-05	0.00942114161085787
RARA ESR1 NRIP1 NCOR2	28.6965779415893	6.94299579645508e-05	0.00978474227908227
WNT7B WNT9A SFRP1 FZD6	28.6760626262778	7.00524789388757e-05	0.00979594315952231
SRGAP3 CDC42 RHOC RAC2	28.6404711577778	7.11455952410178e-05	0.00981616644043802
JAK1 PLCG1 INPP5D GAB1 PIK3CG	28.6359573747511	7.1285426226364e-05	0.00981616644043802
PLCG2 RAC2 ERBB2	28.4969001187867	7.57289573065645e-05	0.0103490504610085
ITGA2 ITGB1 COL1A1	28.3358726804886	8.12175769320245e-05	0.0110156681975698
RARA NR4A1 RXRG NR0B2	28.272947363157	8.34676785458344e-05	0.0112112362753675
FN1 ITGA5 ITGB1 COL1A1	28.2609813679027	8.3902483351328e-05	0.0112112362753675
WNT7B FZD5 WNT8A LRP6	28.2059889685213	8.59296908479745e-05	0.0113976889206369
GRAP2 KIT LYN TEC	28.1669648675896	8.73975481037181e-05	0.0115077691258611
VDR CREBBP RXRG NCOR2	28.0520143594651	9.18668746556772e-05	0.0120085982022736
PLCG1 PLCG2 DAPP1 LCK	27.9715650736977	9.51284115033868e-05	0.0123454778065438
GNA15 PLCB3 CCKBR CCKAR	27.9427772607904	9.63231016192223e-05	0.0124112316436368
MYO9B CDC42 ARHGEF16 RHOA RAC2	27.9090397727876	9.77420843949472e-05	0.0125047479461025
PLCG1 INPP5D PIK3C2G	27.8838748780116	9.8813940723641e-05	0.0125528498360124
WNT9A WNT2 SFRP1 WNT3A SFRP2	27.7914902131575	0.000102849446886544	0.0128917167361238
WNT9A WNT2 FZD10 WNT2B	27.778951425619	0.000103409565157975	0.0128917167361238

ITGB7 ITGAE CDH1	27.77413724378	0.000103625418633957	0.0128917167361238
CDC6 MYC KAT2A	27.7115968285336	0.000106470333020581	0.0131549201188922
EGR1 SUMO1 FOS CREBBP JUN	27.6240961397605	0.000110580605941268	0.0135698200719356
PPARG CREBBP RXRG NCOR2	27.5509430976001	0.00011413693052631	0.0139115952011088
EGR1 ATF3 MAPK8 JUN	27.5054371080834	0.000116405959871058	0.0140929336249262
RARA ESR1 NR4A2 NR0B2	27.4411569947162	0.000119687222619458	0.014393585392216
LPAR1 PLCB3 GNAI1 GNAO1	27.4166263737513	0.000120963364271809	0.0144507160801269
MYO9B CDC42 RHOC ARHGEF3 RAC2	27.3900743285181	0.000122359815246997	0.0145213730739512
COL7A1 COL4A1 THBS1	27.3388553271592	0.000125098711169724	0.0147152888466737
PLCG1 PLCG2 SYK BLNK VAV1	27.3291351802324	0.000125625283130315	0.0147152888466737
NR4A1 THRA NR2F1 RXRG	27.3028784522932	0.000127058664552426	0.0147871693539433
AR SMAD3 NR3C1 FOS CREBBP JUN	27.2689282769885	0.000128936008387925	0.0149094657391653
CDC42 RHOC RAC2 TRIO	27.1961811994592	0.000133051439908605	0.0152873562070785
MYO9B RHOBTB1 ARHGEF16	27.1459848996085	0.000135966503748697	0.0155221790995511
WNT7B WNT8B FZD8 LRP6	27.1315542931186	0.000136816147060737	0.0155221790995511
EGR1 MAPK1 FOS MAPK3 JUN	27.0310626219519	0.000142880027751424	0.0161088301287996
KCNH4 KCNV2 KCNC1	26.9956362967551	0.0001450803827312	0.0162553107086218
NCOA6 RARA EP300 ESR1 CREBBP NCOR2	26.9213492425526	0.000149803621229627	0.0166809106380324
CCNF CDK2 FBXW7 CDC6	26.8485672909132	0.000154578309638165	0.0171006247892552
WNT9A WNT4 SFRP1 SFRP2	26.835238574078	0.000155468843363704	0.0171006247892552
EGR2 EP300 CREBBP JUN	26.7755598471288	0.000159518676488779	0.0174397418495823
EP300 FOS JUN RUNX2 STAT3	26.7150994681548	0.000163727725907115	0.0177920749857737
AR FOS JUN RUNX2 STAT3	26.6303641630664	0.000169811770570738	0.0183427217324883
UBC FOS JUN RUNX2 STAT3	26.4445199025761	0.000183947749246682	0.0197513895753625
PLCG1 DAPP1 SRC LYN	26.3699213638104	0.000189943153357852	0.0201806666064622
MAPK14 FOS SYK JUN RELA SRC	26.3669841169678	0.000190183121187348	0.0201806666064622
WNT9A FZD5 WNT16 LRP6	26.3429132291878	0.000192160973871203	0.0202712971208341
UBC FOS SYK JUN RELA SRC STAT3	26.301736681909	0.000195591522860528	0.0205132295400061
MAPK7 FOS ETS1 JUN	26.2617324198458	0.000198982253610147	0.0207482131379968
WNT2 WNT8A WNT2B SFRP1 SFRP2	26.2474281351811	0.000200208696432558	0.020756118821534
CDK1 FZR1 CCNB1 CCNA1 CDC25A PLK1 CDC6 CCNB2	26.2094319940982	0.000203502801849331	0.0209770688146291
FN1 SPARC COL1A1	26.1628111735907	0.000207617757702616	0.0212796405181676
WNT9A SFRP1 WNT7A SFRP2	26.1239122999116	0.000211113873979762	0.0215157241396663
PPARG NR4A2 RXRG NR0B2	26.0821768787099	0.000214929524524177	0.0217815376005147
PLCG1 PLCG2 SYK TEC VAV1	26.004611917084	0.000222202442909603	0.0223927925566834
FOS SP1 JUN MAPK13	25.928212942528	0.000229603184066507	0.0229027534745208
UBC IQGAP1 EGFR CTNNB1 SRC CDH1	25.9190758915583	0.00023050440356942	0.0229027534745208
IQGAP1 CDC42 EGFR CTNNB1 SRC CDH1	25.913343092634	0.000231071629933077	0.0229027534745208
KCNH4 KCNQ2 KCNQ3	25.8721400373913	0.000235189129086932	0.0231834792327824
WNT8B WNT5A SFRP1 SFRP2	25.8107401883403	0.000241459529904176	0.023672219890986
PLCB3 GNA11 QRFPR	25.7667095654351	0.000246057332121463	0.0239925849412923
MAPK14 FOS SYK NFKB1 SRC LYN	25.7480340462725	0.000248033458339014	0.0240552449192338
WNT7B WNT9A WLS	25.713963654031	0.000251678971885938	0.0242650410606448
RARA NR4A2 RXRG RARB	25.7027813265905	0.000252886951571663	0.0242650410606448
CACNA1C RYR2 PRKACA	25.6851479699831	0.000254803433399564	0.0243195721433584
VDR SMAD3 RUNX2	25.5745673198054	0.000267152592773434	0.0253640295844209

VAV2 SYK RHOG SOS1	25.5570806429516	0.000269158725755725	0.0254207029000394
PLCB2 SYNJ1 PIK3CG PIP5K1C PIK3CD	25.5321474360699	0.000272044858848464	0.0255594646289971
SYNJ1 PLCD1 PIK3CG PIP5K1C PIK3CD	25.4983461585815	0.000276006278447483	0.0257972914866018
SYNJ1 PIK3CG PIP5K1C PLCZ1 PIK3CD	25.4366116794924	0.00028338870224176	0.0263507670089645
PLCB1 SYNJ1 PIK3CG PIP5K1C PIK3CD	25.4235578211305	0.000284974480012967	0.0263623315125842
UBC EZR ACTN1 CDH1	25.3770945066954	0.000290690119877035	0.0267538728186828
PLCG1 PLCG2 DAPP1 LYN	25.3460226927976	0.000294575281335918	0.0269267862581376
FN1 THBS1 HRG PLG	25.3382567962664	0.000295554281230181	0.0269267862581376
SOS1 RHOC RAC2 ERBB2	25.2941531545496	0.000301175283263011	0.0273010097225199
PLCG1 PLCG2 PIK3C2G	25.2300995461407	0.000309526991264186	0.0279177869770733
FOS SYK NFKB1 SRC LYN STAT3	25.2018453466345	0.000313283099805939	0.0281159892407927
UBC SMAD2 SMAD3 FOS JUN RUNX2	25.1859102513802	0.000315421280794648	0.0281677449715577
EP300 SMAD2 SMAD3 FOS JUN RUNX2	25.1400598344666	0.000321654055890574	0.0285828448975866
WNT7B FZD8 LRP5 WNT8A	25.0830991270988	0.000329566368529655	0.029142390793659
WNT8B WNT5B SFRP1 SFRP2	25.0046765248861	0.00034077449212655	0.0299864929925407
PTEN AKT1 EGR1 FOS SRC	24.9522295970682	0.000348478870449087	0.0305155841943256
GNA15 PLCB3 LPAR3	24.9140034168003	0.000354202100068091	0.0308669163436149
MTNR1A RGS20 MTNR1B GNAI1 GNAI3	24.8822594583836	0.000359025099553989	0.0310250157379448
MYO9B CDC42 RHOC NET1 RAC2	24.8794432891595	0.000359456083443122	0.0310250157379448
UBC CDK1 JUN SRC LYN	24.8514131831575	0.000363773659174726	0.031248157323109
DOK1 GRB2 KIT LYN TEC	24.7788837113858	0.000375184133624251	0.0320755762390894
WNT9A WNT1 SFRP1 WNT3A SFRP2	24.7371364563319	0.000381910976319899	0.0324966608577107
MAPK14 FOS ESR1 MAPK11 JUN SRC	24.7217792483034	0.000384415289667261	0.0325561850249189
SYK PIK3CG RHOA RAC2	24.6900590709469	0.000389639234875783	0.0328444026071226
WNT7B WNT6 SFRP1 SFRP2	24.6517666841553	0.000396038746026783	0.0332285718119867
UBC MAPK1 FOS ESR1 JUN EGFR SRC	24.5915974228974	0.000406304032684157	0.0338931655776084
MYO9B CDC42 NGEF RHOA RAC2	24.5786669292467	0.000408544028038027	0.0338931655776084
APC2 CDC27 CDH1	24.5726159355246	0.000409596435274606	0.0338931655776084
UBC SMAD3 NR3C1 FOS JUN	24.5525927516604	0.000413097994377387	0.034026825208099
CDK4 CDK1 CCNF CDK2 CDC6	24.5087966796729	0.00042085989647056	0.0345085985110565
PLCD4 SYNJ1 PIK3CG SYNJ2 PIP5K1C PIK3CD	24.4563172830103	0.000430350006616731	0.0351270758794534
UBC FYN PIP5K1C CDH1	24.4336517764708	0.000434513574300355	0.035171274895751
AKT1 RARA ESR1 CREBBP SRC	24.4228141475949	0.000436518394243079	0.035171274895751
WNT8B WNT2 FZD10 WNT2B	24.4166605361965	0.000437660782131366	0.035171274895751
WNT8B FZD5 WNT16 LRP6	24.4111276903893	0.000438690440243028	0.035171274895751
MAPK1 FOS AGT SRC	24.4004600176703	0.000440682420969951	0.0351746468667122
PSEN1 JUP CDH1	24.3711167614825	0.000446207747223704	0.03545877335757
PLCB2 ADRA1A GNA15 ADRA1D	24.3257251984927	0.000454889565787986	0.0359901441984626
ADRA1A GNA15 ADRA1D PLCB1	24.2281851134257	0.000474111947185274	0.0373471852195422
MEF2D MEF2C MAPK13	24.2143415122133	0.000476904123065891	0.0374037977216766
PLCG1 INPP5D PIK3CG LYN PIK3CD	24.1973208541334	0.000480359280207066	0.0375063901213522
WNT7B WNT8B SFRP1 FZD6	24.1874683661122	0.00048237055868694	0.0375063901213522
WNT8B WNT2 SFRP1 WNT3A SFRP2	24.1446413321166	0.000491209964211037	0.0380297705768365
WNT9A WNT2 FZD2 FZD1 WNT2B	24.111838933834	0.000498087921181556	0.0383974701290346
PLCG2 SYK RAC2 PIK3CB	24.0290637856459	0.000515868155232524	0.0395989176691043
ESR1 THRA NR4A2 NR2F1	24.0032285839404	0.00052154439437313	0.039771942552891

PLXNA4 RRAS RND1	23.9987628937434	0.000522531758137101	0.039771942552891
MYO9B ECT2 CDC42 RHOC RAC2	23.955082519155	0.000532286965767459	0.0403442209053748
CDC42 EGFR CTNNB1 SRC MET CDH1	23.9198051059592	0.000540296112324201	0.0407799228879342
UBC EGFR CTNNB1 SRC MET CDH1	23.9081915699752	0.000542958617937628	0.0408101271207369
MYO9B ARHGEF3 RHOB RAC2	23.8776703043115	0.000550017570168371	0.0411691574616898
CDC42 RHOC ARHGAP15 RAC2	23.867750979606	0.000552331086899782	0.041171489572666
LCP2 PLCG1 PLCG2 SYK LYN	23.827695469066	0.000561771125249133	0.0417028367422597
SOCS3 MAPK11 SRC	23.8084877808187	0.000566353992628499	0.0418707363648586
NMUR2 GNA15 PLCB3	23.711408409532	0.000590085190311451	0.0434471295837889
WNT8B WNT4 SFRP1 SFRP2	23.63497545745	0.00060945493298592	0.0446908842932236
ESR2 FOS ESR1 MAPK11 SRC	23.5924406984273	0.000620503509955461	0.0453168535064233
PRKD1 PKD1 CDH1	23.5807092499191	0.00062358529369777	0.0453367057387823
PLCG1 SYK PIK3CG SRC LYN CBL	23.5723066259536	0.000625801858692654	0.0453367057387823
MED1 RARA ESR1 NR4A1 THRB	23.5386900468358	0.000634747471650265	0.0458008385643966
PLCG1 JAK2 GAB1 PIK3CG SRC	23.5199902318251	0.000639777918882145	0.0459798959311355
CDK1 FZR1 CCNB1 CCNA1 CDC25A CDK2 CDC6 CCNB2	23.5080997030554	0.000642996958465925	0.0460278656101858
MYO9B RHOBTB1 NGEF	23.4951082998976	0.000646532232910335	0.0460460230405902
PRKACG ADCY9 GNAO1 PRKACA	23.4884344289825	0.000648355776501464	0.0460460230405902
PLCB3 GNA14 QRFPR	23.4279803202563	0.000665106038667873	0.0470503836530579
NCOA6 RARA ESR1 CREBBP SRC	23.4106027445947	0.000669999127376419	0.0472113838232157
WNT9A FZD10 WNT16	23.2917394153463	0.000704429824918473	0.0494443953762815

Table A.30. Results of statistical analysis of the enrichment of the gene set, in general, using a set of genes consisting of 253 orthologous genes proposed in this work based on the analysis of maximal cliques in the network of protein-protein interactions, the expression of which was enriched in Fisher's meta-analysis using data from genes of human orthologues, rats and zebrafish (Experiment 4) [311, 373]. P-value and FDR are set to 0.05. p.geomean is the geometric mean of individual p-values for the sample in the experimental group, stat.mean is the mean of the statistical indicator for the sample in the experimental group.

	p.geomean	**stat.mean**	**p.val**	**q.val**	**set.size**
Whole brain zebrafish					
Stress - CUS	0.0158350100655709	2.11001541435221	1.30103998855426e-07	1.30103998855426e-07	225
Fluoxetine - Control	0.0289336645708696	1.85760441987371	2.8526272304413e-06	2.8526272304413e-06	231
Fluoxetine - CUS	0.198908481814815	0.803149224907988	0.0247120154155718	0.0247120154155718	225
MDD human - Control					
Hippocampus	1.75184095561863e-10	6.41840434724109	1.16588704029555e-27	1.16588704029555e-27	224
Prefrontal cortex	0.000506647782182357	3.23210250919084	6.86491091131674e-11	6.86491091131674e-11	245
Rat hippocampus					
CUS - Control	0.000100320850914349	3.71032421694908	9.77483087800069e-11	9.77483087800069e-11	220
Fluoxetine - Control	0.00248702361905806	2.70663534545235	1.57116830988579e-06	1.57116830988579e-06	242
Fluoxetine - CUS	0.000376851964266212	3.28687154021419	8.38127501663008e-09	8.38127501663008e-09	220